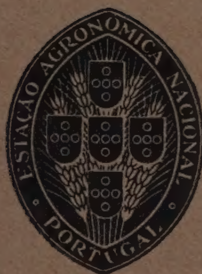
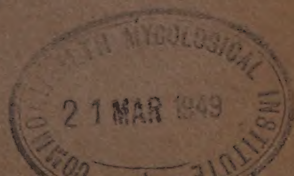
AGRONOMIA LUSITANA

VOL. 7 — N.º 4
1945



ESTAÇÃO AGRONÓMICA NACIONAL
QUINTA DA ALDEIA - SACAVÉM
PORTUGAL



AGRONOMIA LUSITANA

VOL. 7 — N.º 4
1945



Estação Agronómica Nacional
PORTUGAL

Composição e impressão das Oficinas
da Tip. Alcobacense, Lt. — Alcobaça

ESTUDO CITOLÓGICO DE *TRITICUM SPHAEROCOCCUM* PERC.

POR *A. CÂMARA*
(Estação Agronómica Nacional)

1. INTRODUÇÃO

NOS nossos laboratórios, temos procurado inventariar as formas de Trigo, que se apresentam mais refractárias à secura, com vista ao aproveitamento dos seus genes de resistência, na produção futura de variedades, com valor cultural apropriado ás condições mais caracterizadas de sequeiro do país.

Entre as raças que julgámos necessitavam dum estudo cuidadoso, genético e agronómico, embora ainda hoje se considerem geralmente com baixo valor agrícola, figuravam as diferentes formas dessa espécie hexaplóide, tão curiosa, oriunda da Índia, que foi classificada pela primeira vez por PERCIVAL (1921) como *Triticum sphaerococcum*. Demais dá-se a circunstância dos estudos realizados sôbre esta espécie serem escassos, podendo dizer-se que ainda não existe conhecimento preciso àcêrca do seu valor agrícola ou genético.

Em Portugal, as diversas formas de *T. sphaerococcum* são pràticamente desconhecidas; que saibamos só na Estação Agronómica Nacional se têm mantido, em observação, quatro das suas variedades.

A falta de elementos de estudo sôbre esta espécie, aliada ao facto de andarmos, hà anos, interessados na determinação dos ideogramas dos trigos hexaplóides, havendo já obtido, em trabalhos pormenorizados anteriores, os das espécies *vulgare*, *compactum* e *spelta* (CÂMARA, 1944), levaram-nos a tentar a comparação desses resultados com os que obtivessemos em *T. sphaerococcum*. Para isso efectuámos o seu estudo citológico, tanto na mitose como na meiose, e tanto em plantas de linhas puras como de híbridos de F_1 com *Triticum vulgare*.

Os trigos de grãos esféricos e pequenos, de espigas curtas e densas, eram já conhecidos há bastante tempo dos triticistas

através dos trabalhos de HOWARD e HOWARD (1910), realizados na Índia. Então atribuiam-se essas formas cultivadas a *Triticum compactum*, arrumando-se em seis variedades. Segundo PERCIVAL (1921), as referências a êstes trigos são ainda mais antigas na literatura, datando já do ano de 1882, duma obra de DUTHIE e FULLER intitulada «Field and Garden Crops of the North-West Provinces of Oudh», que alude à existência ali dum trigo curioso de bagos redondos e pequenos chamado na região «Paighambari». Deu-se a tendência natural para designar estes trigos como *compactum*, pois havia grande semelhança com os tipos do trigo prehistórico *T. compactum* variedade *globiforme*.

A circunstância de não haver trigos *compactum* na Índia, e de ser aí, nas suas zonas setentrionais, que existe o solar dêstes trigos, levou PERCIVAL a considerá-los como uma outra espécie.

O *T. sphaerococum* distingue-se fàcilmente dos outros trigos hexaplóides. É planta de pequeno porte, com 60 a 70 cm — segundo ELLERTON (1939) a sua variedade *rubiginosum* ainda é mais baixa, com cêrca de 54 cm; as espigas são muito densas, muito curtas, com grãos francamente esféricos, muito pequenos, com características morfológicas diversas de tudo quanto se conhece em trigos, e o afilhamento é intenso, com colmos relativamente grossos e fortes.

Segundo PERCIVAL (1921) a classificação do *Triticum sphaerococcum* fazia-se da maneira seguinte:

Espigas aristadas	Brancas, glabras	Com grão branco . .	var. *echinatum*
		» » vermelho. . .	*spicatum*
	Ruivas, glabras	» » » . . .	*rubiginosum*
Espigas muticas	Glabras	» » branco	*tumidum*
		» » vermelho. . .	*rotundatum*
	Pubescentes	» » branco	*globosum*

Além destas variedades criadas por PERCÎVAL, ELLERTON (1939) cita a existência de mais outra, nas colecções de Cambridge, de espigas aristadas, glabras, ruivas e de grão branco. É natural que existam mais, em obediência à variação paralela, que repitam tipos já conhecidos para os outros trigos hexaplóides.

A área cultural do *Triticum sphaerococcum* é relativamente reduzida. Das seis variedades que HOWARD e HOWARD mencionavam

no seu trabalho de 1910, só uma era considerada cultura importante, a que êles atribuiam a *Triticum compactum*, var. *Humboldtii* Kcke, que hoje se denominaria *Triticum sphaerococcum* var. *tumidum* Perc., designada como Trigo Anão do Punjab, variedade tida como produtiva, muito resistente à seca e dando bom pão.

A zona de distribuïção, porém, das diversas formas desta espécie, dadas as suas características eminentemente xerofíticas, ainda é para considerar, estendendo-se pelo Belouchistão oriental, Sind, Punjab e outras províncias centrais da India.

Tem-se relatado também a existência de formas de *sphaerococcum* no Iraque e no Irão, mas, devido à extrema raridade do seu aparecimento, consideram-se como formas importadas da Índia e depois mantidas em cultura, como impurezas, nas formas hexaplóides habitualmente cultivadas.

Facto curioso é não ter sido encontrado o Trigo *sphaerococcum* por VAVILOV e BUKINICH (1929, 1931), entre a flora trigueira do Afganistão, embora aí esteja o centro botânico de diversidade dos *Triticum vulgare* e *T. compactum*.

Os estudos genéticos ou citológicos foram iniciados, tanto quanto chega ao nosso conhecimento, por MICZYŃSKI (1930), que, analisando os resultados de dois cruzamentos entre *Triticum vulgare* e *T. sphaerococcum*, concluiu que todo o complexo de caracteres «sphaerococcum» se herdava em bloco, como se fôsse originado por um simples gene. O *T. vulgare*, para êste caso, poderia representar-se por *SS* — a condição dominante — e o *sphaerococcum*, como *ss* — a condição recessiva. E como nalguns indivíduos da F_2, dum cruzamento entre plantas *vulgare* muticas e *sphaerococcum* aristadas, se notava considerável redução do comprimento das aristas nas formas tidas como *sphaerococcum*, concluia MICZYŃSKI que o gene *s* tinha efeito directo na redução do comprimento das aristas. Quere dizer que aristas com 2 cm. apenas, em *Triticum sphaerococcum*, correspondiam, para a mesma constituïção genética, em relação ao caracter aristado, a aristas de 4-5 cm. de comprido, num Trigo *vulgare*.

O mesmo autor admitia também a possibilidade de existir outro gene, estreitamente ligado ao gene *s*, que reduzisse o comprimento das aristas. Seria um «linkage» apertado, mas não

completo, pois apareciam indivíduos que por esta explicação teriam de resultar de «crossovers».

Depois dos trabalhos de MICZYŃSKI (1930), na literatura da citologia do trigo, encontram-se os escritos de VAKAR (1932), estudando as associações de cromosomas em metafases meióticas de híbridos de F1 de *sphaerococcum* × *turgidum* e *sphaerococum* × × *pyramidale*.

Segundo êle viam-se 14 bivalentes e 7 univalentes, mostrando-se, portanto, inclinado a aceitar que os genómios A e B se repetiam, naqueles trigos tetraplöides utilizados nas hibridações, e no hexaplöide *sphaerococcum*. Nêsses primeiros trabalhos, não se referia à produção de multivalentes, mas nas suas figuras mostrava desenhos duma ponte anafásica e dum fragmento, possìvelmente resultantes duma inversão. Aquêle Autor não procurou fazer quaisquer interpretações, limitando-se a acentuar que, pelos seus resultados, o *T. sphaerococcum* era muito afim da outra espécie hexaplöide *T. vulgare*.

Cinco anos mais tarde, KIHARA (1937) relatava estudos do mesmo género em híbridos, mas então entre *T. sphaerococcum* e *T. vulgare*, referindo que, em trabalhos seus e de LILJENFELD, nos cruzamentos executados nos dois sentidos, havia-se notado a formação normal de 21 bivalentes com perfeito emparelhamento. Só ocasionalmente se podia observar a formação de multivalentes. Por último, a confirmar a afinidade entre as duas espécies hexaplöides, aludia à circunstância de ser elevada a fertilidade nestes dois híbridos, sendo de 94,84 % para o *T. sphaerococcum* × × *T. vulgare*, e de 91,51 para o seu recíproco.

Mais tarde, ELLERTON (1939) procedeu a interessantes estudos genéticos e citológicos sôbre *Triticum sphaerococcum*. Em primeiro lugar, para investigar o tipo de hereditariedade dêsse bloco de caracteres «sphaerococcum», procedeu a análises genéticas de híbridos *T. vulgare* var. Chinez branco × *T. sphaerococcum* var. *rubiginosum*, em que o primeiro progenitor era mutico e o segundo aristado. Os resultados confirmaram o juízo da diferença monogénica, estabelecendo-se a proporção de *3S : 1s* sem qualquer excepção. Depois, em outros cruzamentos com *Triticum vulgare*, das variedades Squarehead's Master e da Sueca Iron, chegou a resultados idênticos.

Como se não poude encontrar um único «crossover», verifi-

cando sempre que os caracteres de *sphaerococcum* se herdavam como um bloco (palha baixa, tipo da espiga, espiga muito densa e pequena, grão pequeno e esférico, e afilhamento abundante), e uma vez que êsses caracteres se apresentavam com tal magnitude e diversidade, que já não era legítimo atribui-los a um simples gene — visto que nos trigos hexaplöides não se encontrava nenhum gene de extensão e efeitos tão acentuados, — ELLERTON teve a idéia de que o *T. sphaerococcum* não resultava duma simples mutação genica, mas duma variação estrutural, de preferência uma delecção. Inclinava-se para a «deficiência», uma vez que nos trigos com 40 ou 41 cromosomas, em que já se não pode discutir a viabilidade de deficiências, se vêem muitas vezes alguns caracteres semelhantes aos do *sphaerococcum*, como palha curta, espigas pequenas e afilhamento profuso.

Estudando, citològicamente, um cruzamento entre *T. sphaerococcum* e *T. vulgare*, verificou que não diferia essencialmente das características notadas nos híbridos intervarietais de *Triticum vulgare*, à excepção de que se observava, na F_2, uma série de multivalentes, que êle tomou como prova evidente dessas plantas serem heterozigóticas para um ou mais intercâmbios segmentários.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Estudaram-se os cromosomas somáticos e meióticos das 4 variedades seguintes: *echinatum*, *rubiginosum*, *tumidum* e *globosum*. Os bivalentes da divisão redutora foram mais atentamente considerados no único híbrido que se analisou, *T. vulgare* var. *lutescens* × *T. sphaerococcum* var. *rubiginosum*.

Os cromosomas mitóticos examinaram-se em placas de metafase de vertices vegetativos das raízes, usando a técnica descrita em trabalhos anteriores, tanto para a preparação do material provocando pelo hidrato de cloral o encurtamento dos cromosomas, como para a sua observação, projecção e medição.

Os cromosomas meióticos estudaram-se utilisando a técnica de carmim ou da orceína, e os dos híbridos quer com a técnica usual do carmim acético quer com esfregaços de violeta de genciana, usando o fixador 2BD de LaCour.

3. OBSERVAÇÕES

A — Cromosomas mitóticos

As medições dos cromosomas mitóticos obtiveram-se nas quatro variedades acima mencionadas. Contudo, só apresentaremos os resultados das medições realizadas sôbre a variedade *rubiginosum*, médias deduzidas de seis células, porquanto as determinadas nas outras variedades se mostraram desconcertantes, com oscilações pronunciadas, dando resultados que aparentemente ofereciam pouca confiança. Como eram poucas as células suficientemente claras que se obtiveram nessas variedades, não houve possibilidade de verificar se tal variabilidade cromosómica correspondia na verdade a características das formas examinadas.

Os resultados das medições dos cromosomas somáticos de *Triticum sphaerococcum* var. *rubiginosum* apresentam-se no Quadro I, em que incluimos, para comparação, os valores dos comprimentos dos cromosomas do *T. vulgare* var. *lutescens*, tais como os determinámos anteriormente (Câmara, 1943). Uma das metafases aproveitadas nessas medições, das favorávelmente influenciadas, para os nossos intuitos, pela acção do hidrato de cloral, é a que se reproduz na figura 1, em que os cromosomas SAT se mostram assinalados com pequenas setas. As microfotografias 1 a 6 mostram algumas das células estudadas com mais intensidade. O ideograma obtido para *T. sphaerococcum*, var. *rubiginosum*, encontra-se desenhado na figura 2.

Na figura 3 apresentam-se conjuntamente os dois ideogramas de *T. vulgare* e *T. sphaerococcum* (os cromosomas desta última espécie estão desenhados com traços mais fortes).

No *Triticum sphaerococcum* existem, portanto, os mesmos 3 pares de cromosomas SAT que existem nos outros três hexaplöides (Câmara, 1944). As diferenças entre os comprimentos dos cromosomas SAT *sphaerococcum* e dos das outras espécies são relativamente pequenas, conforme se verifica no Quadro II, onde agrupamos os dados colhidos com os daquele nosso trabalho já citado.

QUADRO I

N.os dos cromosomas	*Triticum vulgare*	*Triticum sphaerococcum*
1	5.0+2 5 μ	4.5+3.0
2	4 5+2.1	4.2+3.1
3	4.4+2 5	4.1+3.2
4	4 3+2.3+1.1	4.1+2.1+1 0
5	4.1+2.0	4.1+2 6
6	4.0+3.4	3.8+2.9
7	4.0+2.4	3.7+2.9
8	3.9+3.4	3.7+2.9
9	3.9+3.0	3.6+2.4
10	3.9+1.9+0.8	3.5+1.9+0.6
11	3.9+3.0	3.5+2.4
12	3.9+2.9	3.3+2.3
13	3.8+1.9	3.3+2.3
14	3 6+2 5	3.2+2.7
15	3.5+2.6	3.0+2.7
16	3.4+2 5+SAT	2.9+2.0+SAT
17	3.0+2.5	2.9+2.1
18	3.0+1 5	2.7+2.2
19	2.9+2.6	2.6+2.2
20	2.6+1.8	2.5+1.9
21	2.4+2.0	2.2+1.7
Totais	78 0+51 3+1.9 μ	71.4+51.5+1.6 μ
Comprimentos totais	131.2 μ	124.5 μ

Diferença 6.7 μ

QUADRO II

Espécies	SAT 1	SAT 2	SAT 3
Triticum sphaerococcum	4.1+2.1+1.0 μ	3.5+1.9+0.6 μ	2.9+2.0+ satelite μ
» *vulgare*	4.3+2.3+1.1	3.9+1.9+0.8	3.4+2.5+ satelite
» *compactum*	4.2+2.3+1.1	3.8+2.3+0.8	3.3+2.5+ satelite
» *spelta*	4.3+2.0+1.1	3.9+2.0+0.8	3.0+2.5+ satelite

Fig 1

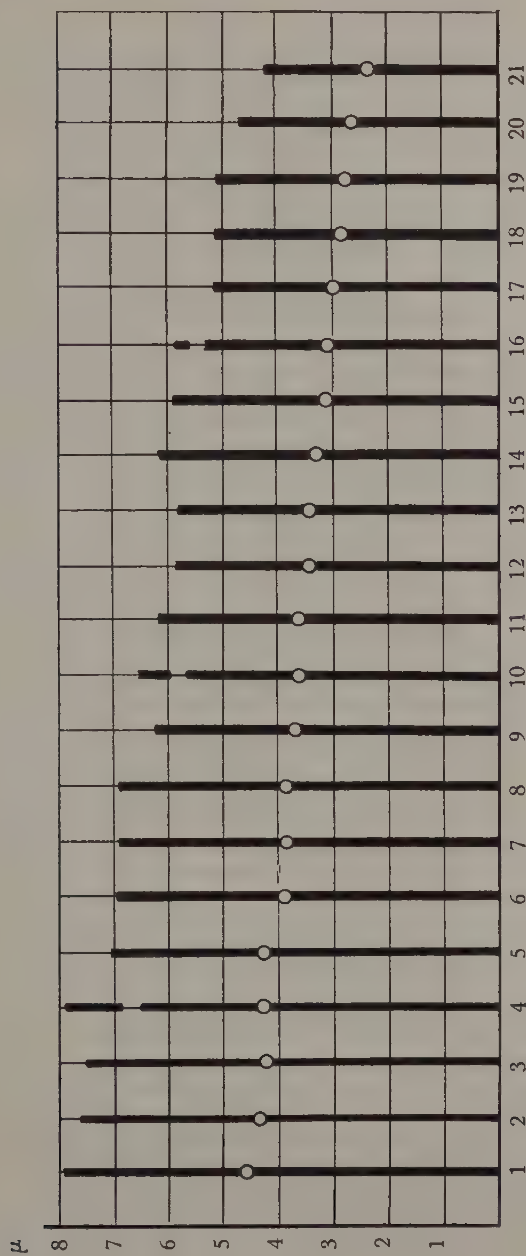


Fig. 2

Ideograma do *Triticum sphaerococcum*

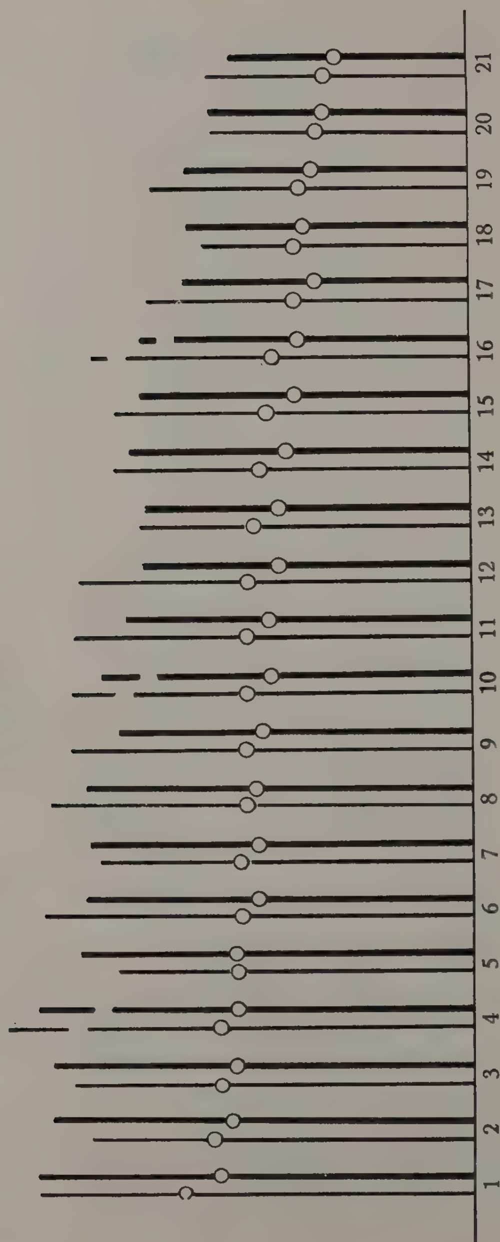


Fig. 3

Comparação do ideograma do *T. vulgare* com o do *T. sphaerococcum.*
(Os cromosomas da segunda espécie são os representados com traços mais fortes)

Como se pode verificar, a diferença aparentemente mais importante é a existente no SAT 3. Êste diverge do mesmo cromosoma do *vulgare* em 1 μ.

B — Cromosomas meióticos

Procurámos estudar profases meióticas, mas sem exito. Continuámos a encontrar, para o género *Triticum*, grandes dificuldades em obter boas fixações, nos estados anteriores á metafase. Nem a substituïção dos fixadores, nem o tratamento prévio das CMP deu até agora qualquer resultado digno de interêsse. Assim, as paquitenas não têm podido estudar-se, como era tão conveniente, na análise dos híbridos.

As nossas observações limitam-se, pois, ao estudo da meiose a partir do termo da diaquinese, já em plena metafase da divisão redutora.

De resto todos que se têm dedicado à citologia do género *Triticum* encontraram iguais dificuldades. Nalguns trabalhos, KAKHIDZE (1938) poude tentar a observação dos arranjos de cromomeros, nas paquitenas de microsporocitos de trigo, como método de comparação da homologia cromosómica. Mas não se chegou ainda a uma análise acurada dos emparelhamentos, de determinados pares de cromosomas, que sejam bem conhecidos, emparelhamentos que pudessem, afinal, esclarecer os problemas de homologia.

As metafases da divisão redutora, em tôdas as plantas de *T. sphaerococcum*, que examinámos, apresentaram-se perfeitamente normais. Estudando as quatro variedades *echinatum*, *rubiginosum* *tumidum* e *globosum*, e procurando em várias plantas, não conseguimos ver nenhuma anomalia. Formam-se regularmente 21 bivalentes, quási sempre 19 parasindéticos e dois telosindéticos. O número de quiasmata totais é, em média, 48. Disjuntam-se os cromosomas normalmente e as anafases e telofases decorrem sem qualquer desvio às regras dos seus funcionamentos.

Nos híbridos de *Triticum vulgare*, var. *lutescens* × *T. sphaerococcum*, var. *rubiginosum*, as coisas já se não passam com a mesma regularidade. Em primeiro lugar, há ocasionalmente a formação de univalentes e de plurivalentes. Na figura 4 apresentam-se, por exemplo, ao lado de 19 bivalentes normais um trivalente e um univalente.

A freqüência do aparecimento de univalentes é relativamente baixa, se a separarmos da formação dos plurivalentes. Assim, como ELLERTON havia já notado (1939), esta anomalia não é mais freqüente da que se verifica em cruzamentos entre variedades da

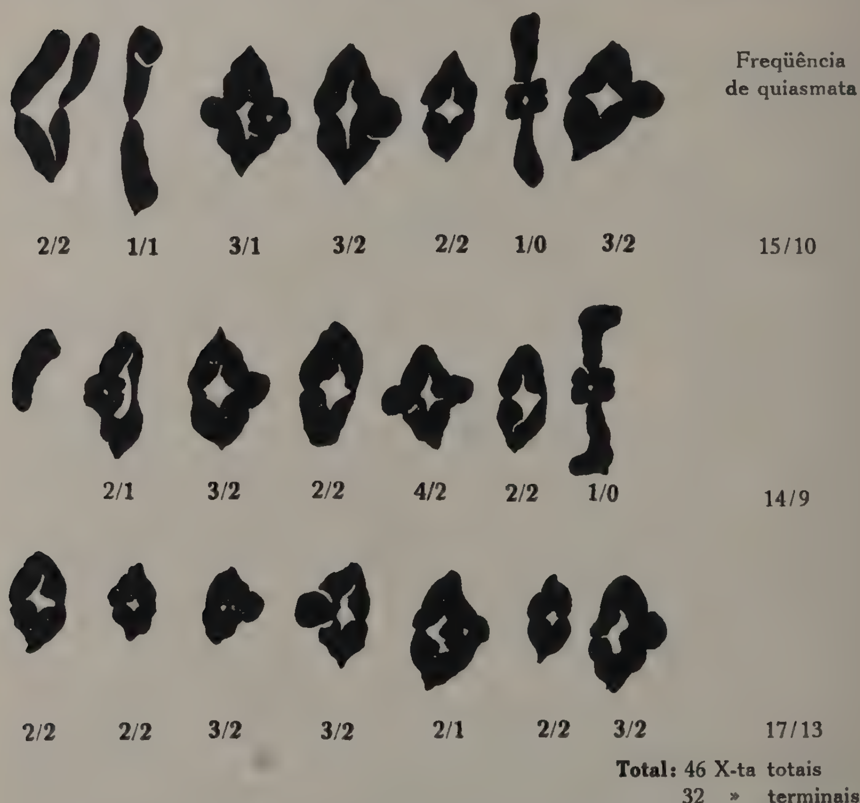


Fig. 4 — Cromosomas da primeira metafase meiótica do híbrido *Triticum vulgare*, v. *lutescens* × *T. sphaerococcum* v. *rubiginosum*.

mesma espécie, *Triticum vulgare*. Entretanto, nos nossos resultados, a percentagem de univalentes nos híbridos da F_1, regula entre 6,5 °/o e 23 °/o. Nas determinações de ELLERTON, dois univalentes substituiam um bivalente, em 10 células das 68 estudadas, portanto a percentagem encontrada era de 14,7 °/o.

Para todos os casos, que examinámos, a média de não emparelhamento deve pois ser semelhante á determinada por ELLERTON.

Não são, porém, claras as razões porque nuns casos a cifra se elevou a 23 % e noutros baixou para 6,5 %. É curioso que já nos resultados de HOLLINGSHEAD (1932), sôbre a produção de univalentes, em híbridos de variedades de *T. vulgare*, as percentagens iam desde 5,2 % até 39,1 %.

Por conseguinte o aparecimento de cromosomas não associados não constitui razão de grande dissemelhança entre os dois genitores *T. vulgare* e *T. sphaerococcum*, pelo menos dissemelhança maior da encontrada dentro da espécie *vulgare*. E êste facto é conhecido desde longa data. GOULDEN (1925), ELDERS (1927) e THOMPSON (1928) haviam-se referido a êle, para híbridos de primeira geração de variedades pertencentes à mesma espécie de trigo. E SAPEHIN (1928) provou que, em híbridos de linhas puras e de variedades, se verificavam não-conjunções, por vezes em freqüência relativamente elevada.

Mais modernamente, nós próprios (CÂMARA, 1945) determinámos como freqüência de não-conjunção, em híbridos de duas linhas puras dum trigo *erythrospermum*, da mesma variedade cultivada portuguesa, denominada Barbela, 35,1 %, muito mais que a determinada, portanto, nos híbridos de *vulgare* e *sphaerococcum*.

O número de quiasmata totais, nos híbridos que estudámos, baixou ligeiramente, em relação ao número de quiasmata totais dos dois progenitores. Em médias deduzidas da contagem de 25 células, os valores encontrados foram:

Para *Triticum vulgare* var. *lutescens*	51
» *Triticum sphaerococcum* var. *rubiginosum* . . .	48
» o Híbrido	46

Também êstes resultados não devem ter qualquer significado importante, pois entre hibridos de variedades e até de linhas puras da mesma variedade (CÂMARA, 1945) se encontram diferenças maiores. Por exemplo, cruzando, como então mostrámos, duas linhas puras do trigo Barbela acima citado, cujos n.^{os} de X-ta totais eram 48, o híbrido tinha apenas 39. E, quando naqueles genitores o n.º de X-ta terminais era 35, no híbrido chegava só a 29.

Quere dizer que, se prestássemos exclusivamente atenção a este aspecto do problema, teriamos de concluir que a distância

entre os dois genitores *vulgare* e *sphaerococcum* é menor que a existente entre duas linhas puras da mesma variedade, o que é evidentemente um contrasenso.

O que parece deve ser mais atentamente considerada é a produção de plurivalentes, que é excepcionalmente elevada nestes híbridos. ELLERTON observou trivalentes e tetravalentes em cêrca de 30 % das células examinadas. No nosso material encontrámos os resultados seguintes, num total de 100 células observadas.

Células com	— Tetravalentes.	26
» »	— Trivalentes	7

Ao todo, portanto, encontraram-se plurivalentes em 33 % das células, percentagem que pràticamente, é semelhante à determinada por ELLERTON.

Êste valor parece curioso, pois afasta-se nitidamente dos valores determinados nas hibridações entre variedades. Na nossa experiência, conforme referiamos naquele estudo já citado (CÂMARA 1945), os plurivalentes nesses híbridos aparecem só raramente.

Os tetravalentes, bem como os trivalentes, apresentavam-se, nos hibridos *vulgare*×*sphaerococcum*, quási sempre em cadeia, muitas vezes em zig-zag, e com freqüência um pouco destacados do conjunto de bivalentes, tornando-se assim a sua observação relativamente fácil.

4. DISCUSSÃO

A presença dêstes tri e tetravalentes, nos híbridos de primeira geração, entre *T. vulgare* e *T. sphaerococcum*, já foi discutida por ELLERTON (1939). Segundo êle poderia explicar-se por três causas distintas: 1) pelo emparelhamento de segmentos cromosómicos duplicados; 2) por intercâmbios segmentários; e 3) por acção simultânea da existência dos segmentos duplicados e dos intercâmbios segmentários.

É compreensível que a primeira explicação se devesse arredar, pois que, se houvesse segmentos cromosómicos duplicados, era de supôr que também os progenitores os apresentassem; e então dever-se-iam encontrar neles os mesmos plurivalentes, facto que não se verifica, como vimos.

Pelo contrário, a explicação do intercâmbio segmentário ou

translocação recíproca, justificando a produção de plurivalentes, parece apesentar-se com outra lógica, sobretudo depois que ELLERTON pôs em relêvo o facto de se produzirem espeltoides, em elevada freqüência na F_2 dêsses cruzamentos.

Esta circunstância, da produção de numerosos espeltoides, após a hibridação de *T. vulgare* com *T. sphaerococcum*, merece ser atentamente considerada.

Já em 1930 MICZYŃSKI se referia à produção de plantas com caracteres de spelta na F_2 de tais híbridos.

Como é sabido, primeiramente, supôs-se que os espeltoides provinham duma simples mutação genica. Depois viu-se que havia casos mais complicados, encontrando-se a explicação de que muitos tipos de espeltoides provinham da segregação irregular de cromosomas. Seguidamente, compreendeu-se que a formação dêsses tipos aberrantes não dependia forçosamente da disjunção irregular de cromosomas, podendo resultar da segregação dum gene específico ou dum bloco de genes que determinem a condição da gluma carenada e curta.

Atribui-se o carácter normal da espiga *vulgare* a um equilíbrio genético existente entre os factores que comandam a formação das glumas espeltoides, localizados em cromosoma desconhecido, e das glumas compactoides, localizados no cromosoma geralmente designado C. Claro que um desequilíbrio nesta condição originaria a formação dos tipos espeltoides.

Êste desequilíbrio poderia ser provocado por uma simples mutação, nuns casos, por deficiências ou duplicações, operadas no referido cromosoma C, noutros casos. Verificou-se demais que êstes tipos aberrantes têm freqüentemente números anormais de cromosomas, e muitas vezes com cromosomas deficientes ou duplicados em certas extensões.

Ficou demonstrado, depois dos trabalhos de SEARS (1944), sôbre nulisómicos, que êsse cromosoma C transporta os genes para a espiga quadrada, glumas estreitas e supressão de aristas. SEARS mostrou que o seu nulisómico IX, o trigo a que faltava o par de cromosomas C, era um espeltoide homozigótico. Quere dizer que a ausência do cromosoma C — como se denominava — ou IX, na terminologia de SEARS — é suficiente para que se produzam êsses tipos aberrantes « espeltoides ».

Podemos, como breve sumário das concepções actuais sôbre

espeltoides, dizer que os tipos α provem pura e simplesmente de genovariações, em alguns casos associadas a deficiencias — que os tipos β resultam da perda dum cromosoma IX, ou da perda do braço mais curto dêsse mesmo cromosoma, e que os tipos γ se formam depois dum cromosoma IX sofrer uma longa deficiência.

ELLERTON, ante a ocorrência dum número elevado de espeltoides na F_2 dos cruzamentos referidos, *vulgare* × *sphaerococcum*, emitiu o parecer de que eles deveriam provir duma translocação recíproca, que envolvesse o cromosoma associado ao caracter espeltoide — êsse cromosoma que hoje designamos por IX — uma vez que se observava com frequência a formação de cadeias de 4 cromosomas.

Depois, o mesmo autor, verificando como o bloco de caractetes *sphaerococcum* se comportava como se fôsse um gene recessivo, alvitrou a teoria de que as formas do *Triticum sphaerococcum* se originaram através duma delecção cromosómica, numa população de *T. vulgare*, que ulteriormente se disseminariam por tôda a sua actual zona de distribuição.

Como dissemos atraz, depois dos cruzamentos *vulgare* × *sphaerococcum*, não se obtêm «crossovers», verificando-se a impossibilidade de observar, nas descendências, indivíduos *vulgare* com características *sphaerococcum* ou vice-versa. E como esse complexo de caracteres *sphaerococcum* se herda como se fôsse um simples recessivo, em bloco, não sendo muito de admitir que existisse um gene no trigo que afectasse tantos caracteres simultâneamente, ELLERTON inclinou-se, naturalmente, para que tal condição resultasse duma variação estrutural, mais provàvelmente duma deficiência que cobrisse vários *loci*. Segundo a sua teoria tal deficiência manter-se-ia intacta, transmitindo-se às descendências como simples factor mendeliano.

É compreensível que a hipótese da variação estrutural, ou melhor da deficiência, aparecesse como lógica explicação da formação desta espécie, pois se haviam encontrado as cadeias de cromosomas e numerosos espeltoides — indícios seguros de se haverem realizado intercâmbios segmentários e possìvelmente delecções de extensão maior ou menor.

Confirmar, porém, essa teoria não parece tarefa fácil. Os estudos citológicos que o seu autor empreendeu, confinados à meiose, não deram quaisquer indicações de existirem deficiências. Demais, como estas, analisando cromosomas meióticos, só se podiam

determinar pela presença de bivalentes heteromórficos, apenas se tornariam notadas caso fôssem muito importantes.

Restava averiguar se essas deficiências poderiam evidenciar-se nos cromosomas mitóticos, de *Triticum sphaerococcum*, depois de atentamente medidos e comparados com os cromosomas correspondentes do *Triticum vulgare*. Como dissemos, foi êsse o objectivo fundamental desta nossa contribuição.

Embora o trabalho da obtenção de ideogramas seja difícil, nem sempre proporcionando resultados útéis, pensámos que mesmo assim êle era de tentar no estudo citológico desta espécie. Apesar de todos os obstáculos que se opõem à medição cuidadosa dos cromosomas dum trigo hexaplöide, confiámos que a nossa experiência, no estudo de cromosomas do género *Triticum*, pudesse afastar algumas das dificuldades mais importantes. Tinhamos, porém, como certo que muitas dessas contrariedades subsistiriam, não podendo resolver-se apenas por aperfeiçoamentos de técnica. Demais sabiamos perfeitamente que nunca poderiamos dar às determinações dos cariotipos — exclusivamente assentes sobre ideogramas, por melhor determinados que fôssem — uma importância decisiva.

Naturalmente, compreende-se que seja bastante complexo medir exactamente os 42 cromosomas dum trigo hexaplöide, visto que êles são longos, muito semelhantes, enredando-se com frequência, e porque as células nem sempre são suficientemente claras. Na maior parte dos casos, os cromosomas não se apresentam bem distendidos ou com distribuïções que permita uma fácil e acurada observação. É preciso estudar vastíssimo material para se encontrarem as placas de metafase convenientes. Por outro lado, corre-se o risco de cometer erros, se não se tomarem as necessárias precauções, para corrigir os encurtamentos ou as distensões anormais que se verificam nos cromosomas.

Como é evidente os cromosomas podem apresentar medidas variáveis consoante os estados da metafase que se estudam, a posição que as células ocupam na radícula, e até o tratamento que se adoptou na técnica citológica utilizada. No nosso laboratório, empregamos o hidrato de cloral, como atraz escrevemos, não só para originar a contracção dos dois braços do cromosoma, o que evidencia mais fortemente a localização do centrómero, mas

também para proporcionar, pelo efeito C-mitótico da diluïção do fuso, uma melhor distribuição dos cromosomas. O alcaloide, porém, origina contracções que têm de ser rigorosamente apreciadas para se poder determinar o necessário coeficiente de correcção. Da mesma maneira, como se trabalha de preferência com esfregaços, há que prestar a maior atenção à possibilidade dêstes originarem alongamentos de cromosomas. As provas e contraprovas, acompanhadas de observações, em material não tratado pelo hidrato de cloral, são por isso indispensáveis, se queremos obter resultados que mereçam confiança.

Apesar de tudo, parece que o método é interessante, dum modo geral para o estudo citológico do género *Triticum*. Afigura-se-nos, com efeito, que, concentrando as atenções sôbre determinados tipos de cromosomas, em material genèticamente conhecido, sobretudo em nulisómicos, se chegará, num futuro próximo, a conclusões de valia. Desde que estão estabelecidos os ideogramas dos trigos 6n, normais, disómicos, agora, determinando-se os ideogramas dos distintos nulisómicos, e comparando-os com aquêles, será relativamente fácil averiguar quais são os cromosomas responsáveis pelos vários grupos de «linkage» já encontrados.

Compreende-se, portanto, que se o *Triticum sphaerococcum* proviesse duma grande deficiência, como pretendia Ellerton, o método da determinação dos ideogramas nesta espécie estava naturalmente aconselhável. Possìvelmente, o método apresentar-se-ia mais valioso que a observação simples dos bivalentes na metafase da divisão redutora, na esperança de comprovar a deficiência referida pela existência de bivalentes heteromorficos, visto que, sendo os cromosomas somáticos mais longos, a delecção, se existisse, seria mais fàcilmente determinada.

A extensão global dos cromosomas de *T. sphaerococcum* é inferior em 6,7 μ à dos cromosomas de *T. vulgare*. As diferenças, que encontrámos anteriormente, entre o comprimento total dos cromosomas de *T. vulgare* e das outras espécies hexaploides, são interessantes comparadas com esta que ora se verifica com o *Triticum sphaerococcum*. O quadro III apresenta em conjunto esses resultados.

Não podemos dar evidentemente grande significado a este facto. Todavia há que o mencionar pois pode suceder que tenha importância. Queremos salientar demais que esta diferença, na

extensão global dos cromosomas, não dá uma ideia da variabilidade sofrida pelos cariotipos, durante a evolução. A simples observação da figura 3 é certamente mais elucidativa.

Como se pode verificar, conquanto os dois ideogramas sejam

QUADRO III

Extensões globais dos cromosomas das espécies de trigos hexaploides

Espécie	Comprimento total dos cromosomas	Diferença para o *T. vulgare*	
		Para mais	Para menos
T. vulgare	131,2 µ		
T. compactum	135,0	3.8 µ	
T. spelta	134,6	3.4	
T. sphaerococcum	124,5		6,7 µ

muito afins, há variadas diferenças. E é preciso acentuar que associámos os cromosomas de *T. sphaerococcum* aos de *T. vulgare*, seguindo o critério de associar primeiro os cromosomas SAT e depois de buscar semelhanças pelo decrescimento sucessivo de dimensões do braço maior. É evidente que se poderiam ter verificado grandes transformações na passagem do cariotipo de *vulgare* ao do *sphaerococcum*, sem que o estudo da morfologia cromosomica revelasse essa evolução. Poderia acontecer que estivessemos a comparar, por exemplo, o IV cromosoma *vulgare* com com o IV *sphaerococcum*, convencidos que eram os mesmos SAT, e afinal só serem homologos no braço mais pequeno. Igualmente poderiamos supor que outro cromosoma qualquer, por exemplo, o XX *vulgare* fôsse correspondente ao XX *sphaerococcum*, e este ser muito diferente daquele, apesar da grande semelhança de dimensões.

Como diziamos, em escrito anterior (CÂMARA, 1944), «a simples comparação de comprimentos dos braços dos cromosomas é falível e pode conduzir a erros apreciáveis».

Nesse mesmo trabalho, manifestavamos a opinião de que as diferenças cariotipicas entre *Triticum vulgare*, *T. compactum* e *Triticum spelta* são muito pequenas, não se encontrando na análise dos ideogramas quaisquer elementos informativos sobre a evolução dos trigos hexaploides. Notava-se mesmo que, por vezes, há tanta ou

maior variabilidade cariotipica entre certas «linhas» ou entre certas variedades da mesma espécie como a existente entre as espécies referidas.

Bastam estasa firmações para que a conclusão atraz apresentada. da extensão global dos cromosomas do *Triticum sphaerococcum* ser inferior à dos de *vulgare*, se encare com toda a reserva, embora se tenha presente que os comprimentos totais dos cromosomas das outras espécies hexaploides, *compactum* e *spelta*, são superiores.

A comparação entre as relações interbraquiais também nada adianta. Veja-se, por exemplo, o que se passa com os dois primeiros cromosomas que parecem no *T. sphaerococcum* de tipos diferentes dos outros tripos hexaploides (Est. II-1).

O quadro IV agrupa as diferenças existentes entre êsses dois primeiros cromosomas.

QUADRO IV

TRITICUM	1.º cromosoma		2.º cromosoma	
	Dimensões em μ	Relação interbraquial	Dimensões em μ	Relação interbraquial
vulgare	5.0+2 5	2 : 1	4 5+2.1	2.14 : 1
compactum	5 0+2.5	2 : 1	4.7+3.5	1.34 : 1
spelta	5.0+2.9	1.7 : 1	5.0+2.7	1.8 : 1
sphaerococum	4.5+3.0	1.5 : 1	4 2+3.1	1.35 : 1

Vê-se que para o 1.º cromosoma se passou da relação interbraquial de 2 : 1, no *vulgare*, para 1.5 : 1, no *sphaerococcum*. Esta foi talvez uma das transformações mais evidentes. Já para o 2.º cromosoma, a mesma relação diverge muito pouco da encontrada para o *Triticum compactum*.

O cromosoma que aparentemente apresenta maior divergência nas duas espécies *vulgare* e *sphaerococcum* é o XII. (Est. I-1 e Est. II-2).

De 3.9 + 2.9 μ passou a 3.3 + 2.3 μ, perdendo portanto 1.2 μ em tôda a sua extensão. Mas outros apresentam diferenças

ainda para considerar. Por exemplo, o cromosoma XVIII (Est. I-1) passa de 3.0 + 1.5 μ para 2.7 + 2.2 μ.

Quere dizer que, só pela análise da morfologia cromosómica, não é possível predizer se houve a deficiência sugerida na hipótese de ELLERTON (1939), se se deu qualquer outra variação, e, se houve deficiência, qual foi o cromosoma que a experimentou.

Entretanto, não podemos esquecer que o ideograma do *Triticum sphaerococcum* tem menos em extensão global de cromosomas 6,7 μ do que o ideograma do *T. vulgare*.

Êste facto, associado ao aparecimento freqüente de plurivalentes, nas metafases da divisão redutora, já testemunhado por ELLERTON e que nós confirmámos, e ainda à produção dum número elevado de espeltoides, fazem crer que, na verdade, a passagem do *vulgare* para o *sphaerococcum* se verifica através dum certo número de variações estruturais. Mas em que cromosomas? E em que extensão?

É de supôr que o cromosoma IX, na terminologia de SEARS (1944) responsável pelo aparecimento de espeltoides, fôsse um dos envolvidos neste processo. Conquanto ELLERTON seja de parecer que as translocações recíprocas, notadas nesta espécie, não tenham significado para o caracter *sphaerococcum*, cremos muito mais lógico admitir que elas tivessem intervido também, senão no todo pelo menos em parte, atravez do processo evolutivo, na formação da nova espécie.

Com efeito, se uma simples deficiência fôsse a responsável pela formação do *Triticum sphaerococcum*, possivelmente várias vezes teria aparecido esta espécie e ela não se apresentaria acantonada numa região tão restrita. Claro, não seria esse cromosoma IX o que sofreria a deficiência responsável pelo conjunto de caracteres *sphaerococcum*. Porque se o fôsse, atravez da formação de todas essas formas aberrantes espeltoides, já se teria dado com relativa frequência a produção ocasional de tipos *sphaerococcum*. Demais, no nulisómico IX de SEARS (1944) os caracteres são distintos — com espigas frouxas e estreitas, com aristas aumentando de comprimento — enfim tudo caracteres opostos ao tipo *sphaerococcum*.

Analisando as caracteristicas mais salientes apontadas por SEARS, para os seus nulisómicos, e procurando ver neles onde se poderiam encontrar os tipos mais próximos da espécie que analisámos, parece

que os nulisómicos III, V, XV e XVI seriam os possiveis. Todos apresentam espigas pequenas, densas, e colmos curtos.

Poderia ser que qualquer dos cromosomas, que faltam nestes nulisómicos, sofresse no *T. vulgare* original a deficiência ou deficiências que, em condição homozigotica, originassem o complexo de caracteres *sphaerococcum*. Parece-nos, porém, que essa variação estaria associada à variação sofrida pelo cromosoma IX, uma vez que os plurivalentes, nas metafases da 1.ª divisão dos híbridos da F_1 e a produção de espeltóides são factos indiscutíveis.

ENGLISH SUMMARY

1. The somatic and meiotic chromosomes of *Triticum sphaerococcum* Perc. were studied. Meiosis was studied too in hybrids of F_1 *Triticum vulgare* Host var. *lutescens* Al $\times$ *T. sphaerococmcu* Perc. var. *rubiginosum* Perc.

2. The idiogram was established for the variety *rubiginosum* Perc. (Fig. 2). There are 3 SAT chromosomes very similar to the SAT chromosomes of the other hexaploid species, and there are 6 nucleoli. (CÂMARA 1944).

3. The idiogram of *T. sphaerococcum* was compared with the idiogram of *T. vulgare* (fig. 3). No sharp differences were found, although the total length of chromosomes in *T. sphaerococcum* is 6, 7 μ shorter than in *T. vulgare.*

4. It was not possible to determine in the idiogram the existence of the deletion postulated by ELLERTON (1939), as responsible for the complex of characters by which *T. sphaerococcum* differs from *T. vulgare.* In the former species there are several chromosomes shorter than in the later. But it seems that this fact cannot be a definite proof of the deletion's theory. The variability found within one hexaploid species (CÂMARA, 1945) seems to be as important as the one observed in this case.

5. To test Ellerton's thesis, the study of pachytene pairing, in F_1 hybrids between *T. vulgare* var. *lutescens* and *T. sphaerococcum* var. *rubiginosum*, was undertaken.

However difficulties of technique in obtaining clear prophase chromosomes did not permit a successful study.

6. In metaphases of the first meiotic division in above said F_1 hybrids the formation of multivalents is frequent. Tetravalents or trivalents were found in 33 % of the cells studied.

7. The production of speltoids in the offspring of those hybrids *vulgare* × *sphaerococcum*, as was noticed by MICZYŃSK (1930) and ELLERTON (1939), was discussed in relation with the cytological findings. It is assumed that the IX chromosome — in Sear's terminology (1944) — was envolved in the natural process of *sphaerococcum* origin.

8. It is realized that the mechanism which produced *T. sphaerococcum* from a population of *T. vulgare* forms must be much more complicated that was suggested by ELLERTON (1939) through a single deletion.

9. It was estimated that other chromosomes, besides the IX chromosome, had taken an important rôle in the evolution of *Tritícum vulgare* in its long way to the production of *Triticum sphaerococcum*. Multivalent formation in the high percentage of 33 % in F_1 of hybrids *vulgare* × *sphaerococcum* was considered as a strong evidence of the importance of segmental interchange in the *T. sphaerococcum* origin. Several reciprocal translocations followed naturally by some deficiencies ocurred probably many times in the history of this species; and perhaps some of the chromosomes studied by SEARS as III, V, XV, and XVI, which nullisomics have culms short, spikes short and compact or usually dense, were the chromosomes that suffered most from those structural variations.

BIBLIOGRAFIA

CÂMARA, A.

1943 Estudo comparativo de cariotipos no género *Triticum*. *Agron. lusitana*, **5** (2): 95-117.

1944 Cromosomas dos trigos hexaploides *Agron. lusitana*, **6** (3): 221-251.

1945 Variabilidade cariotípica dos trigos hexaploides. *Rev. Las Ciencias (Madrid)*, año X, n.º 3 (no prelo).

DUTHIE AND FULLER
1882 *Field and Garden Crops of the North-West Provinces of Oudh.* (ref. em Percival).

ELDERS, A. T.
1927 The cytology of certain hybrid Wheats, Marquillo and H-44-24. *Scient. Agric.* **8**: 105-111.

ELLERTON, S.
1939 The origin and geographical distribution of *Triticum sphaerococcum* Perc. and its cytogenetical behaviour in crosses with *T. vulgare* Vill. *J. Genet.*, **38** (1,2): 307-324.

GOULDEN, C. H.
1925 A genetic and cytological study of dwarfing in wheat and oats. *Thesis Univ. of Minnesota,* 1-37.

HOLLINGSHEAD, L.
1932 The occurrence of unpaired chromosomes in hybrids between varieties of *Triticum vulgare. Cytologia,* **3**: 119-141.

HOWARD, A. and HOWARD, G. L. C.
1910 *Wheat in India, its production, varieties and improvement.* Calcutta

KAKHIDZE, N. T.
1938 On the chromomere structure of wheat chromosomes. *Compt. Rend. (Dokl.) Acad Sci. U. R. S. S.* **21**: 140-143.

KIHARA, H.
1937 Genomanalyse bei *Triticum* und *Aegilops.* VII. Kürze Ubersicht über die Ergebnisse der Jahre 1924-36. *Mem. Coll. Agric. Kyoto.* **41**: 1-61.

MICZYŃSKI, K
1930 O dziedziezeniu sie niektórych cech u pszenicy w krzyowkach *Triticum pyramidale* × *T. durum* i *T. vulgare* × *T. sphaerococcum. Rczn. Nauk. rol.* **23**: 27-62

PERCIVAL, J.
1921 *The Wheat Plant, a monograph.* London.

SAPEHIN, A. A.
1938 Peculiarities of segregation in hybrids between *durum* and *vulgare* wheats. *Bull. Inst. Genet. U. R. S. S.* **12**: 59-66.

SEARS, E. R.
1944 Cytogenetic studies with polyploid species of wheat. II. Additional chromosomal aberrations in *Triticum vulgare. Genetics* **29**: 232-246.

THOMPSON, W. P.
1928 The genetics and cytology of a dwarf wheat. *Trans. Roy. Soc. Can.* **22**: 335-348.

VAKAR, B. A.
1932 Cytological study of the interspecific hybrids of the genus *Triticum*. *Bull. Appl. Bot. Leningrad,* Ser. **2** (1): 189-241.

VAVILOV, N. I. and BVKINICH, D. D.
1929 Agricultural Afghanistan. *Bull. Appl. Bot. Leningrad,* Suppl. **33**, 610 pg.

VAVILOV, N. I. *et al.*
1931 The wheats of Abyssinia and their position in the general system of the wheats. *Bull. Appl. Bot. Leningrad,* Suppl. **51**, 236 pg.

LEGENDAS DAS GRAVURAS

Cromosomas somáticos do *Triticum sphaerococcum Perc.*

ESTAMPA I

Fot. 1 - Do lado esquerdo apontam-se com setas os três tipos de cromosomas SAT. Do lado direito indicam-se os cromosomas n.os 12 e 18, que se teem como dos que fazem mais diferença em relação aos cromosomas correspondentes do *T. vulgare.*

Foto 2—Assinalam-se os cromosomas n.os 1, 4, 5 e 21, também considerados como diversos dos correspondentes do *T. vulgare.*

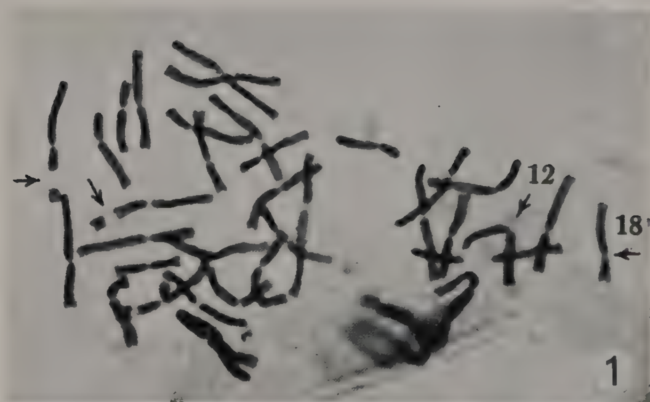
Foto 3—Apresentam-se os cromosomas, neste caso, distribuidos em dois grupos, o que sucede algumas vezes por efeito do hidrato de cloral. Esta distribuïção auxilia, geralmente, a determinação dos homologos, o que proporciona uma confirmação fácil das medidas obtidas para o estabelecimento dos ideogramas.

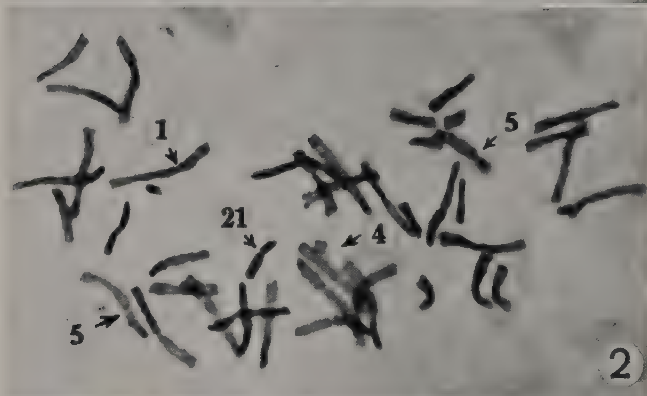
ESTAMPA II

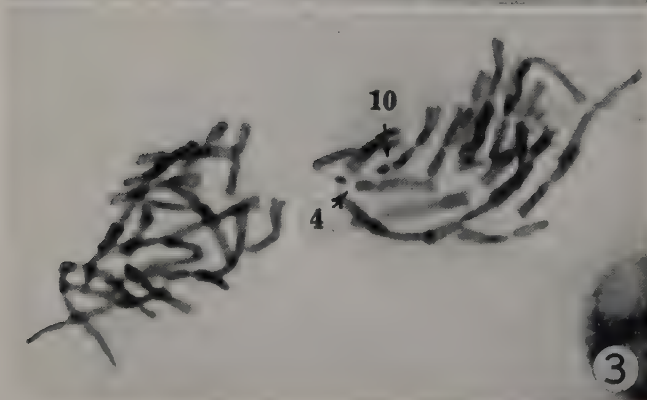
Foto 1—Nesta metafase apontam-se os cromosomas n.os 1, 4, 10, 12, 16 e 21 que, segundo as determinações feitas, parecem ser cromosomas alterados na evolução do *T. vulgare* para *T. sphaerococcum.*

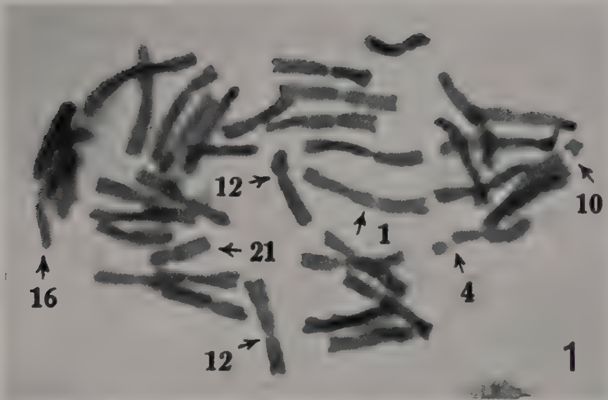
Foto 2--Com uma seta indica-se o cromosoma SAT que aparece com alguma freqüência dotado de longa zona nucleologénica.

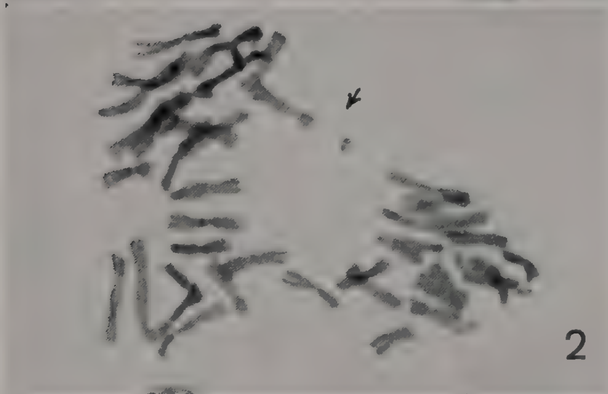
Foto 3 –Apresentam-se os 3 tipos de cromosomas SAT.

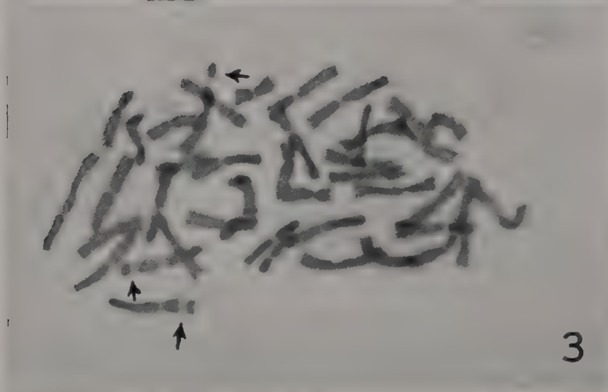

12
18
1


1
5
21
4
5
2


10
4
3


12
1
10
21
16
4
12
1


2


3

ESTUDO
DOS VIRUS DAS CRUCÍFERAS
III
ESTIRPES ISOLADAS DE *BRASSICA OLERACEA* L.

POR *MARIA DE LOURDES D'OLIVEIRA*
e *MARIA DE LOURDES V. BORGES*
(Estação Agronómica Nacional)

INTRODUÇÃO

A presente contribuïção para o estudo dos virus das Crucíferas diz respeito aos isolamentos feitos de diferentes variedades e formas cultivadas de *Brassica oleracea* L. (couve portuguesa, couve galega, couve lombarda e repôlho), e foi realizada nas mesmas condições gerais descritas em trabalhos anteriores (OLIVEIRA e BORGES, 1944 *a* e 1944 *b*).

Dos isolamentos de que foi possível estabelecer « cultura » na estufa, conseguiram diferenciar-se alguns tipos, considerando-se oito como patogènicamente bem definidos. Êsses tipos assim caracterizados, comparam-se com os virus descritos noutros países baseando-se nas descrições dadas pelos seus autores em determinados hospedeiros. A impossibilidade de obter sementes das mesmas variedades culturais usadas por outros investigadores, e mesmo de identificar alguns hospedeiros referidos apenas pelos seus nomes vulgares, dificulta até certo ponto esta comparação, pelo que só os grandes grupos e as reacções gerais em determinados géneros se consideram de valor diferencial.

Da comparação das estirpes agora isoladas com os virus prèviamente descritos por nós em Crucíferas, conclui-se que só uma delas tinha sido possìvelmente encontrada noutro hospedeiro (*Matthiola incana*, var. *annua*). As restantes podem considerar-se como virus típicos da couve, sendo geral a susceptibilidade das diferentes variedades ou formas cultivadas de *Brassica oleracea* por nós experimentadas aos virus estudados.

A freqüência com que determinado tipo de vírus apareceu nos nossos isolamentos parece estar directamente relacionada com a amplitude dos seus hospedeiros, isto é, a uma mais larga ocorrência correspondeu, em geral, nos nossos ensaios, um maior número de hospedeiros susceptíveis.

A distribuição dos diferentes isolamentos mostra também que os vários tipos se encontram nas diversas regiões e, apesar do pequeno número de localidades representadas nas nossas colheitas, é possível ver que os pontos mais assìduamente freqüentados, revelaram a existência de mais do que um tipo de vírus.

Para evitar longas descrições, os sintomas dos diferentes vírus, tanto nos hospedeiros originais como nos diferenciais, sua distribuição e freqüência, são resumidos em Quadros.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os vírus das Crucíferas têm sido mais sistemàticamente estudados na América do Norte do que nos outros paises. Constituem, por isso, um grupo ainda mal conhecido entre nós e, dado o número de géneros pertencentes a esta família que contêm espécies cultivadas em larga escala, é de prever que um estudo mais aprofundado dos vírus que atacam estas plantas revele curiosos resultados.

Em dois trabalhos anteriores (OLIVEIRA e BORGES, 1944a e 1944b) fez-se o estudo de alguns vírus isolados de *Rapistrum* sp. (planta espontânea, muito freqüente, infestando os terrenos cultivados) e de *Matthiola incana* var. *annua* (o goivo cultivado nos jardins). Dos 16 isolamentos descritos nessas publicações, e considerados diferentes entre si, só um dos que foi isolado de goivo se mostrou capaz de infectar plantas de couve (*Brassica oleracea*), pelo que pràticamente, os vírus desta planta se encontravam por estudar no nosso país.

SARDIÑA (1943), em Espanha, descreve um mosaico da couve-flôr, que consegue transmitir, por inoculação, à couve em 100% dos casos; não faz, porém a descrição dos sintomas neste hospedeiro, nem parece ter experimentado a sua transmissão a outros.

Pelo que respeita às investigações feitas no continente da Europa sobre os vírus das Crucíferas, temos ainda conhecimento de um trabalho de MOERICKE & WINTER (1940), que descrevem um vírus da couve-flôr na Alemanha, sem contudo apresentarem caracteres que permitam a sua identificação, pois além dos sintomas provocados nalgumas variedades regionais de couve, não se referem outros hospedeiros fora da espécie, nem estão indicadas propriedades físicas.

CALDWELL & PRENTICE (1942) publicaram um estudo, feito na Inglaterra, sobre um mosaico da couve-bróculo, que é transmissível experimentalmente a diversas variedades de couve. Tanto pelas linhas gerais da infecciosidade dêste vírus noutros hospedeiros, como por algumas propriedades físicas estudadas, os seus autores estabelecem tentativamente a sua identidade com um mosaico da couve-flor descrito por TOMPKINS na América do Norte (1937).

Foram, porém, os trabalhos de TOMPKINS e seus colaboradores na América do Norte que iniciaram o estudo dos vírus das Crucíferas com bases seguras para se poderem comparar os resultados em outros países. Em 1937 descreve este autor um mosaico da couve-flôr na Califórnia que é transmissível á couve e, fazendo a sua comparação com os vírus anteriormente descritos, chega á conclusão que é diferente. Em publicações sucessivas TOMPKINS e THOMAS (1938), TOMPKINS (1938), TOMPKINS, GARDNER e THOMAS (1938) e TOMPKINS (1939), estudam diversos vírus que atacam Crucíferas cultivadas e que são transmissíveis experimentalmente á couve ou foram isolados desta planta. Estabelecem nêsses trabalhos as reacções dos diferentes vírus numa série de hospedeiros e apresentam um resumo das suas principais propriedades físicas, o que permite repetir os ensaios nas mesmas linhas e portanto comparar os resultados.

Também na América do Norte LARSON & WALKER (1939 e 1941) apresentam mais dois novos virus da couve, um produzindo mosaico e outro formando anéis necróticos, que consideram distintos dos prèviamente descritos, pelas reacções em diversos hospedeiros.

Finalmente, em 1942, HOPKINS & PARDY descrevem na Rodésia dois virus, um isolado de couve, outro isolado de couve-flor mas transmissivel à couve, que os seus autores não relacionam com os já conhecidos e que não é fácil comparar com êstes, em virtude da escassez de dados e das diferenças dos hospedeiros usados.

Como o presente estudo se refere exclusivamente aos nossos isolamentos de couve (*Brassica oleracea*) não fazemos aqui referência a publicações sôbre virus das Cruciferas que não sejam transmissíveis a esta planta.

MATERIAL E MÉTODOS DE ESTUDO

Fizeram-se colheitas de material suspeito de infecção por virus em 46 plantas pertencentes a diversas variedades de *Brassica*

oleracea (com exclusão de couve-flor e bróculos), encontradas no campo, em diferentes épocas do ano, e em várias localidades do país, durante perto de três anos.

Partindo dêste material, foi possível estabelecer «cultura» de virus, pela inoculação mecânica de suco, em 25 casos, conservando-se os isolamentos assim obtidos durante todo o tempo que duraram as investigações. Tôdas as passagens em série foram feitas pelo mesmo processo, usando em geral carborundo como abrasivo, e inoculando-se para cada hospedeiro um número de plantas nunca inferior a três. No Quadro I estão resumidos os sintomas originais verificados no hospedeiro natural na ocasião da colheita no campo, o número de vezes que cada virus foi encontrado e o local onde o material foi colhido.

Os hospedeiros diferenciadores utilizados neste trabalho são essencialmente os mesmos que serviram para diferenciar as estirpes descritas nas contribuições anteriores, tendo apenas sido reduzido, nalguns casos, o seu número, por se verificar que nem todos tinham valor para a identificação de novos virus.

A reacção positiva ou negativa, isto é a susceptibilidade ou insusceptibilidade de um hospedeiro mostrar sintomas pela inoculação directa (Quadro II), foi o critério primordial na separação dos grupos, anotando-se, porém, em cada caso, as diferenças quer qualitativas quer quantitativas na manifestação da reacção sintomatológica (Quadros III a VIII). Esta reacção foi avaliada pelos resultados de inoculações paralelas, feitas em séries tanto quanto possível completas dos hospedeiros considerados mais importantes, usando-se de cada vez três ou mais plantas de cada diferenciador, e sendo as séries experimentadas sempre mais do que uma vez. As leituras das reacções eram feitas periòdicamente, anotados os primeiros sintomas logo que êles apareciam, e só consideradas como negativas quando estes se não manifestavam até as plantas terem atingido um estado vegetativo bastante adeantado.

RESULTADOS DAS INOCULAÇÕES

Dum modo geral, os hospedeiros mais sensíveis apresentaram sintomas entre os 12 e os 16 dias após a inoculação (em média, depois do 14.º dia já se podiam distinguir claramente os primeiros sinais de infecção) mas em algumas plantas, como por exemplo o

QUADRO I

Origem das estirpes B isoladas de *Brassica oleracea* L. e sintomas nos hospedeiros originais:

Designação	N.º de isolamentos	Origem	Sintomas nos hospedeiros originais
B1	2	Alcobaça . .	Faixas verde escuro ao longo das nervuras. Pontuações necróticas.
		Loures . . .	Mosaico irregular. Clorose das nervuras. Rugose.
B2	2	Sacavém . .	Mosaico irregular. Pontuações necróticas dispersas. Nervuras necróticas. — Aneis necróticos com centro verde.
		Parêde . . .	Mosaico miudo muito nítido.
B3	4	Sacavém . . .	Mosaico e rugose (Couve Galega).
		Alcobaça . .	Faixas verde escuro ao longo das nervuras.
		Alcobaça . .	Faixas verde escuro ao longo das nervuras.
		Alcobaça . .	Mosaico irregular. Redução da superfície foliar, afilamento. Não forma repolho. (Couve Lombarda).
B4	1	Alcobaça . .	Manchas cloróticas irregulares. Desenhos necróticos, principalmente junto às nervuras.
B5	4	Parêde . . .	Mosaico.
		Ajuda	Margens das fôlhas cloróticas. Aneis necróticos, nervuras necróticas.
		Sacavém . . .	Aneis cloróticos com centro verde. Pontuações necróticas.
		Sacavém . . .	Faixas verde escuro ao longo das nervuras. Pontuações necróticas e necroses junto às nervuras.
B6	4	Parêde . . .	Clorose em aneis com centro verde ou clorose geral com raras ilhas verdes. Necrose na página inferior.
		Sacavém . . .	Aneis cloróticos com centro verde (Couve Galega).
		Sacavém . . .	Faixas verde escuro ao longo das nervuras. Necrose junto às nervuras.
		Coimbra . . .	Mosaico, clorose.
B7	3	Sacavém . . .	Aneis cloróticos pequenos. Pontuações necróticas.
		Porto Brandão	Mosaico irregular. Ligeira redução da superfície foliar.
		Alcobaça . .	Manchas cloróticas, traços necróticos ao longo da nervura principal. Pontuações necróticas. Rara formação de aneis.
B8	5	Ajuda	Clorose em aneis com centro verde. Aneis coalescendo, por vezes, formando grandes áreas cloróticas.
		Sacavém . . .	Aneis cloróticos pequenos que se tornam necróticos (Couve Galega).
		Sacavém . . .	Faixas verde escuro muito nítidas ao longo das nervuras (Couve Galega).
		Sacavém . . .	Aneis necróticos muito numerosos.
		Porto Brandão	Mosaico irregular.

rabanete (*Raphanus sativus*), só muito mais tarde era possível decidir se estavam infectadas ou não.

Da análise do Quadro II conclui-se que os 25 isolamentos por nós estudados se agrupam em 8 tipos patogènicamente caracterizados pelas suas reacções num número relativamente pequeno de hospedeiros. Dêstes, sem dúvida, são as duas Solanáceas utilizadas os diferenciadores mais característicos, separando logo dois grupos, entre os oito virus: o dos que infecta estas plantas e o dos que não produzem quaisquer sintomas. Acrescentando a estas reacções as obtidas em rabanete (*Raphanus sativus*), em Mostarda (*Sinapis juncea*), e em goivo (*Matthiola incana*, var. *annua*), é possível difinir os oito tipos, como se verifica pela seguinte chave dicotómica:

Nic. glutinosa e *Nic. Tabacum* —	*Sinapis juncea* —	*Matthiola incana* —	B1
		Matthiola incana +	B2
	Sinapis juncea +	*Matthiola incana* —	B3
		Matthiola incana +	B4
Nic. glutinosa e *Nic. Tabacum* +	*Raphanus sativus* —	*Sinapis juncea* —	B5
		Sinapis juncea +	B6
	Raphanus sativus +	*Sinapis juncea* +	B7
		Sinapis juncea —	B8

O grupo a que chamamos B1 é de todos êles o menos activo patogènicamente, pois só produziu infecções em *Brassica oleracea*. Outros grupos, pelo contrário, produziram sintomas em diversos dos hospedeiros usados, e aquele que designamos por B8 infecta quási todas as espécies por nós experimentadas.

Dentre os hospedeiros mais susceptíveis aos vírus estudados contam-se, além da *Brassica oleracea*, hospedeiro original, a *Brassica Napus* (duas variedades culturais), a *Malcolmia maritima*, o *Cheiranthus Cheiri* e a *Matthiola incana* var. *annua*. Mostraram-se mais resistentes, *Raphanus sativus* e *Sinapis juncea*, êste último hospedeiro susceptível a quási todos os isolamentos feitos de *Rapistrum* sp. e de *Matthiola incana* (OLIVEIRA e BORGES, 1944 a e 1944 b).

Os Quadros III a VIII dão o resumo dos tipos de reacção observados nas inoculações experimentais, e por êles se verifica que nem sempre os sintomas obtidos pela transmissão na estufa

QUADRO II

Resultados de inoculações experimentais

Hospedeiros	GRUPOS																								
	B1		B2		B3				B4	B5				B6				B7			B8				
	I	II	I	II	I	II	III	IV	I	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	I	II	III	IV	V
Nicotiana glutinosa e *N. Tabacum*	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Raphanus sativus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
Sinapis juncea	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—	—	+	+	+	+	+
Cheiranthus Cheiri	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Matthiola incana	—	—	+	+	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Malcolmia maritima	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Brassica Napus	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Brassica oleracea	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

QUADRO III

Reacções sintomatológicas características dos Grupos B1, B2 e B4

Hospedeiros	Grupo B1		Grupo B2		Grupo B4
	ISOLAMENTOS		ISOLAMENTOS		ISOLAMENTOS
	I	II	I	II	I
Sinapis juncea	—	—	—	—	Mosaico. Rugose. Proliferações.
Cheiranthus Cheiri	—	—	Clorose das nervuras.	Clorose das nervuras.	Mosaico. Rugose. Redução da superfície foliar. Deformação.
Matthiola incana	—	—	Mosaico. Clorose das nervuras.	Mosaico. Clorose das nervuras.	Mosaico. Redução da superfície foliar.
Malcolmia maritima	—	—	Mosaico.	Mosaico. Rugose. Redução da superficie foliar.	Mosaico. Rugose.
Raphanus Raphanistrum	—	—	Mosaico. Nanismo.	Clorose. Necrose. Redução da superfície foliar.	Mosaico. Redução da superfície foliar.
Brassica Napus	—	—	Mosaico.	Mosaico. Redução da superfície foliar. Nanismo.	Redução da superfície foliar. Acronecrose.
Brassica chinensis		Rugose. Deformação intensa.			Redução da superfície foliar. Proliferações.
Brassica oleracea	Clorose das nervuras.	Clorose das nervuras.	Mosaico.	Mosaico. Clorose das nervuras.	Mosaico. Rugose. Necrose.

QUADRO IV

Reacções sintomatológicas características do Grupo B3

Hospedeiros	Isolamentos			
	I	II	III	IV
Sinapis juncea	Mosaico.	Mosaico.	Mosaico.	Mosaico.
Cheiranthus Cheiri	Mosaico. Clorose das nervuras.	Mosaico. Rugose Redução da superficie foliar.	Mosaico.	Mosaico.
Malcolmia maritima		Mosaico. Rugose Redução da superfície foliar.	Mosaico. Rugose.	Mosaico. Necrose. Redução da superfície foliar.
Raphanus Raphanistrum	Mosaico.	Mosaico. Desenhos necróticos.	Mosaico. Desenhos necróticos.	Mosaico. Desenhos necróticos.
Brassica Napus	Clorose das nervuras. Redução da superfície foliar.	Lesões necróticas locais. Acronecrose.	Mosaico. Rugose. Redução da superfície foliar.	Mosaico. Redução da superfície foliar. Bexigas verdes.
Brassica chinensis	Roseta. Rugose. Mosaico.	Rugose. Necrose das nervuras. Redução da superfície foliar. Deformação.	Necrose das nervuras. Rugose. Redução da superficie foliar. Mosaico.	Rugose. Necrose das nervuras. Redução da superfície foliar. Deformação.
Brassisa oleracea	Mosaico pouco severo. Faixas verde escuro ao longo das nervuras.	Mosaico. Faixas verde escuro ao longo das nervuras.	Mosaico. Faixas verde escuro ao longo das nervuras.	Mosaico. Faixas verde escuro ao longo das nervuras.

QUADRO V

Reacções sintomatológicas características do Grupo B5

Hospedeiros	ISOLAMENTOS			
	I	II	III	IV
Nicotiana Tabacum	Lesões necróticas locais.	Lesões necróticas locais.	Lesões necróticas locais.	Lesões necróticas locais.
N. glutinosa	Manchas cloróticas que passam a necróticas.	Manchas cloróticas que passam a necróticas.	Mosaico. Necrose.	Clorose. Necrose.
Cheiranthus Cheiri	Mosaico. «Streak»	Mosaico. « Streak »	Mosaico. « Streak »	Mosaico. « Streak »
Matthiola incana	Mosaico. Clorose das nervuras.	Mosaico. Redução da superfície foliar.	Mosaico.	Mosaico. Redução da superfície foliar. Nanismo.
Malcolmia maritima	Mosaico. Rugose. Flores raiadas.	Mosaico. Rugose. Flores raiadas.	Mosaico. Rugose. Redução da superfície foliar.	Mosaico. Rugose. Redução da superfície foliar.
Raphanus Raphanistrum	Aneis cloróticos. Necrose. Nanismo. Redução da superfície foliar.	Redução da superfície foliar.	Mosaico. Redução da superfície foliar.	Mosaico. Redução da superficie foliar. Necrose.
Brassica Napus	Filosidade. Pintas necróticas.	Mosaico. Acronecrose.	Mosaico. Rugose.	Necrose dos feixes.
Brassica chinensis		Rugose. Necrose. Redução da superfície foliar.		Rugose. Necrose das nervuras. Deformação. Redução da superfície foliar.
Brassica oleracea	Mosaico. Ilhas verdes.	Mosaico. Ilhas verdes.	Manchas cloróticas circulares com centro verde. Desenhos necróticos.	Mosaico.

QUADRO VI

Reacções sintomatológicas características do Grupo B6

Hospedeiros	ISOLAMENTOS I	II	III	IV
Nicotiana Tabacum	Lesões necróticas locais.	Lesões necróticas locais.	Lesões necróticas locais.	Lesões necróticas locais.
N. glutinosa	Mosaico. Necrose.	Mosaico. Necrose.	Necrose.	Clorose. Necrose.
Sinapis juncea	Redução da superfície foliar. Nanismo. Necrose.	Redução da superfície foliar. Necrose. Nanismo.	Mosaico. Redução da superfície foliar. Rugose.	Mosaico. Necrose das nervuras.
Cheiranthus Cheiri	Rugose.	Mosaico. Redução da superfície foliar.	Mosaico. Rugose.	Mosaico. Rugose. Bexigas verdes. Redução da superfície foliar.
Matthiola incana	Mosaico.	Mosaico. Redução da superfície foliar.	Mosaico.	Mosaico. Redução da superfície foliar.
Malcolmia maritima	Mosaico. Rugose.	Mosaico. Redução da superfície foliar.	Mosaico. Rugose. Redução da superfície foliar.	Mosaico. Redução da superfície foliar.
Lobularia maritima	—	Mosaico.	Mosaico.	—
Raphanus Raphanistrum	Clorose. Redução da superfície foliar. Necrose Nanismo.	Redução da superfície foliar. Necrose.	Mosaico. Redução da superfície foliar.	Mosaico. Necrose.
Brassica Napus	Mosaico largo. Clorose das nervuras. Redução da superfície foliar.	Rugose. Redução da superfície foliar. Necrose Nanismo.	Mosaico. Rugose. Necrose. Nanismo.	Rugose. Redução da superfície foliar. Necrose.
Brassica chinensis	Rugose. Bexigas verdes.	Redução da superfície foliar. Deformação. Necrose das nervuras.	Rugose intensa. Redução da superfície foliar. Necrose das nervuras. Deformação.	Redução da superfície foliar. Deformação. Necrose das nervuras. Folhas geniculadas e com proliferações.
Brassica oleracea	Aneis necróticos muito numerosos.	Aneis necróticos. Mosaico. Ilhas verdes.	Mosaico. Ilhas necróticas com centro verde.	Aneis necróticos. Manchas cloróticas circulares.

QUADRO VII

Reacções sintomatológicas características do Grupo B7

Hospedeiros	ISOLAMENTOS		
	I	II	III
Nicotiana Tabacum	Lesões necróticas locais.	Lesões necróticas locais.	Lesões necróticas locais.
N. glutinosa	Mosaico. Rugose.	Mosaico. Rugose.	Mosaico. Necrose.
Raphanus sativus	Mosaico.	Mosaico.	Mosaico.
Cheiranthus Cheiri	Mosaico. Rugose.	Rugose. Redução da superfície foliar.	Mosaico. Rugose. Redução da superfície foliar.
Matthiola incana	Mosaico. Rugose. Redução da superfície foliar.	Mosaico. Rugose. Redução da superfície foliar.	Mosaico. Redução da superfície foliar.
Malcolmia maritima	Mosaico. Redução da superfície foliar.	Mosaico.	Mosaico. Redução da superfície foliar.
Raphanus Raphanistrum	Mosaico. Rugose. Redução da superfície foliar.	Mosaico. Redução da superfície foliar.	Mosaico. Redução da superfície foliar. Necrose das nervuras.
Brassica Napus	Mosaico. Rugose. Redução da superfície foliar.	Mosaico. Rugose, Redução da superfície foliar.	Mosaico. Rugose.
Brassica oleracea	Mosaico. Necrose em aneis.	Mosaico.	Mosaico.

QUADRO VIII

Reacções sintomatológicas características do Grupo B8

Hospedeiros	ISOLAMENTOS				
	I	II	III	IV	V
Nicotiana Tabacum	Lesões necróticas locais	Lesões necróticas locais	Lesões necróticas locais	Lesões necróticas locais	Lesões necróticas locais
N. glutinosa	Necrose	Necrose	Necrose	Mosaico	Necrose
Raphanus sativus	Mosaico, Ilhas verdes. Desenhos necróticos	Mosaico Necrose	Mosaico	Clorose	Mosaico
Sinapis juncea	Mosaico. Redução da superfície foliar	Mosaico Necrose	Mosaico Rugose	Redução da superfície foliar. Necrose das nervuras	Mosaico 'Streak'
Cheiranthus Cheiri	'Streak'	Mosaico. Clorose das nervuras	Clorose das nervuras. Redução da superficie foliar. «Streak»	Mosaico	Clorose das nervuras
Matthiola incana	Mosaico	Mosaico	Mosaico	Mosaico. Redução da superfície foliar	Mosaico. Redução da superfície foliar
Lobularia maritima	—	Mosaico. Rugose. Redução da superfície foliar	Mosaico	Mosaico	Mosaico. Rugose. Redução da superfície foliar
Malcolmia maritima	Mosaico Rugose	Mosaico. Rugose. Redução da superfície foliar	Mosaico Rugose	Mosaico. Rugose. Redução da superfície foliar	Mosaico. Rugose. Redução da superfície foliar
Raphanus Raphanistrum	—	—	Mosaico. Rugose. Redução da superfície foliar	—	Redução da superfície foliar
Brassica Napus	Mosaico. Redução da superfície foliar. Rugose. Nanismo	Clorose e necrose das nervuras. Rugose	Redução da superfície foliar. Rugose. Necrose	Redução da superfície foliar. Acronecrose	Mosaico. Clorose das nervuras. Redução da superfície foliar. Necrose das nervuras
Brassica chinensis	—	—	Mosaico Rugose Roseta	Mosaico. Clorose das nervuras. Rugose. Roseta	Mosaico Rugose Roseta
Brassica oleracea	Mosaico. Des.os necrót.	Mosaico. Necrose	Clorose das nervuras	Mosaico	Clorose das nervuras

condizem em absoluto com os sintomas originais (Quadro I). Independentemente da influência que as condições ambientes em que se desenvolveu, num e noutro caso, a planta e a infecção, possa ter sobre a manifestação das reacções patológicas do hospedeiro, temos ainda que tomar em consideração que nem sempre as plantas originais pertenceriam à mesma variedade ou forma das que usavamos na estufa. Também foi observado por nós, durante o decurso da infecção experimental, que os sintomas variavam com certa amplitude em relação aos estados de desenvolvimento fisiológico da planta e ainda em resultado das variações de temperatura e intensidade luminosa.

DISCUSSÃO

Os oito virus de que se ocupa êste estudo foram caracterizados em 9 hospedeiros distintos, pelas reacções obtidas por inoculação mecânica, repetida nalguns casos cinco vezes, sob diversas condições ambientes de temperatura e luminosidade. A constância de reacção para cada isolamento e a semelhença dos sintomas apresentados por alguns grupos, leva-nos a aceitá-los como entidades patológicas definidas e a descrevê-los aqui como virus diferentes. É possível, no entanto, que alguns sejam relacionados entre si, talvez mesmo até simples estirpes, com capacidade patogénica diversa num ou noutro hospedeiro. Um estudo serológico dos diferentes isolamentos poderá ajudar a esclarecer alguns aspectos das suas relações.

Dos nove hospedeiros diferenciais mais usados, apenas quatro são essenciais para a caracterização dos oito virus (vd. Chave dicotómica), a saber: uma das duas Solanaceas *(Nicotiana Tabacum* var. White Burley ou *Nic. glutinosa)*, *Matthiola incana* var. *annua*, *Raphanus sativus*, e *Sinapis juncea*. Pelo que respeita á identificação destes hospedeiros com as plantas diferenciadoras de virus das Crucíferas, usadas por outros autores em outros países, não é fácil admitir a sua identidade absoluta, porquanto as sementes de goivo, rabanete e mostarda por nós empregadas, foram obtidas no mercado local, e consistem seguramente em variedades culturais que podem ser muito diferentes das que se encontram em outros pontos do globo. Nas nossas experiências, foi muita vez verificado que, diversas variedades de uma mesma espécie, ou mesmo for-

mas diferindo apenas por pequenos caracteres, davam reacções sintomatológicas diferentes, quer qualitativa quer quantitativamente.

Procurando comparar os nossos vírus com os descritos na América do Norte, pela sintomatologia produzida em couve, encontramos algumas semelhanças entre os que produzem aneis e os dois virus descritos, respectivamente, por TOMPKINS e outros (1938) e por LARSON & WALKER (1941) como «black ring» e «ring necrosis». Os dois virus que designamos por B6 e B8 manifestam sintomas que começam em geral por lesões cloróticas em anel, que mais tarde se tornam necróticas, tomando uma coloração negra por fim. A distribuição dos hospedeiros dêstes dois virus aproxima-se bastante da dos dois virus americanos, pelo que os consideramos como semelhantes.

Dos outros virus descritos por TOMPKINS e capazes de atacar a couve nenhum se pode comparar aos nossos. Três dêles (*Radish mosaic*, TOMPKINS 1939, *Turnip mosaic*, TOMPKINS 1938 e *Chinese Cabbage mosaic*, TOMPKINS & THOMAS 1938) infectam o tabaco e a *Nic. glutinosa* mas produzindo apenas lesões locais em qualquer destas duas plantas, ao passo que todos os virus por nós isolados e que infectam a *Nic. glutinosa* produzem lesões sistemicas nesta planta. O mosaico da couve-flôr descrito por TOMPKINS (1937) não infecta nem o tabaco nem a *Nic. glutinosa*, mas parece diferir dos isolamentos portugueses nas mesmas condições, não só pela capacidade de infectar outros hospedeiros, como também pela sintomatologia na couve.

KENNETH SMITH (1937) indica tentativamente 4 virus diferentes como infectando a *Bras ica oleracea*, mas não é também fácil identificar qualquer dos nossos isolamentos com êsses grupos, por serem poucos os hospedeiros indicados e imprecisa a sintomatologia.

A caracterização de virus isolados de plantas da mesma espécie ou próximas, apenas pelas suas reacções numa escala mais ou menos arbitrária de hospedeiros, é susceptível de conduzir a uma diferenciação tão grande de estirpes que cada uma delas não corresponda já, de facto, a uma entidade patológica do grau que pretendiamos definir. Verifica-se realmente que, desde que se aumente o número de espécies diferenciadoras, se corre o risco de encontrar tantos tipos patogénicos quantos os isolamentos feitos. Até que ponto esta especialização da capacidade infectante de uma «cultura» deve ser tomada como indicadora de individuali-

dade etiológica, não é, porém, fácil de dizer. Tendo em conta as numerosas estirpes conhecidas para muitos virus, e a ocorrência de mutantes formados natural e experimentalmente sob condições controladas, os quais apresentam grandes divergências nas relações com os hospedeiros, é possível admitir que alguns dos isolamentos caracterizados nêste trabalho pelas suas reacções nos diferenciadores escolhidos, não sejam mais do que estirpes especializadas patogènicamente, mas possìvelmente relacionadas entre si. A resolução dêste problema não pode possìvelmente ser encontrada pelos métodos usados no presente estudo, visto que, nem o grau da intensidade do ataque em determinado hospedeiro, nem o número de hospedeiros por êle infectados, pode constituir critério único e absoluto de diferenciação de virus.

No decurso dêste trabalho, surgiu a ideia de realizar ensaios serológicos de forma a tentar agrupar e relacionar entre si os diferentes isolamentos de virus das Crucíferas. As investigações estão em curso e serão objecto de uma nova contribuição para o estudo dêste grupo de virus.

SUMMARY

STUDY OF CRUCIFER VIRUSES. III
STRAINS ISOLATED FROM *BRASSICA OLERACEA* L.

Material was collected from 46 plants belonging to several varieties of cabbage, showing symptoms of virus infection, in different parts of the country and at different times of the year.

From the inoculations made in the greenhouse to healthy cabbage plants by mechanical means, 25 virus «cultures» resulted, which, upon further investigation, proved to fall into eight groups, differentiating amongst them by their respective reactions in some nine differential hosts. Of these only four are essential to the characterization of the eight viruses, as shown in the key given at page 322.

Four of the viruses infect both *Nicotiana Tabacum* var. White Burley and *Nic. glutinosa*, producing necrotic local lesions on the first and systemic infection on the second. The four remaining ones are unable to infect these hosts. One of the viruses, here designated as B1, was transmissible by mechanical means only to *Brassica oleracea,* producing in this host a very mild clearing of

the veins. The others show differences in the host range which go to the capacity of infecting them all.

The distribution of the different viruses in the places visited, and the frequency (number of times) with which one given virus was found, can be seen in Table I. It is apparent from the Table that the viruses with a wider range of hosts also have a wider distribution in the country.

Difficulties in identifying our differential hosts with those used by former writers, do not allow an accurate comparision of our viruses with the diseases described in other countries. However, a certain similarity is addmited between the two ring viruses described in North America (*black-ring*, Tompkins et al. 1938, and *ring-necrosis*, Larson & Walker, 1941), and viruses B_6 and B_8 isolated in Portugal. None of the other viruses studied by Tompkins can be compared to ours.

Of the crucifer viruses previously described in this country (OLIVEIRA & BORGES, 1944a, 1944b) only one was able to infect cabbage (G9, isolated from annual stock, *Matthiola incana* var. *annua*). This we find to be very similar to, if not identical with virus B4, here presented as having been isolated only once from cabbage.

It seems clear that, whenever a suficiently large survey is made and numerous virus «cultures» established, a certain amount of pathogenic entities can be differentiated, which differ amongst them in the hability to infect a given range of hosts. Furthermore, the wider the range of hosts tested the larger the number of «strains» differentiated. It follows therefore that one must not seek to exhaust all the possibilities of separation amongst strains of a fairly homogenous virus group, but try only to define the limits of the natural relationship of these isolates. To this end the methods used in the present study seem inadequated. Serologic investigations are under trial which will show whether we can go any further on this line.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CALDWELL, J., and PRENTICE, I. W.
1942 A Mosaic Disease of Brocoli. *Ann. appl. Biol.* **29** : 366-373.
HOPKINS, J. C. F., and PARDY, M. H.
1942 Diseases of Fruit, Flowers and Vegetables in Southern Rhodesia. 6.

Virus Diseases of Cabbages and Cauliflowers. *Rhodesia Agric. J.* **39**: 376-383.

LARSON, R. H., and WALKER, J. C.

1939 A Mosaic Disease of Cabbage. *J. agric. Res.* **59**: 367-392.

1941 Ring Necrosis of Cabbage. *Ibid.* **62**: 475-491

MOERICKE, V. und WINTER, G.

1940 Eine Virose des Blumenkohle in Deutschland. *Z. Pflanzenkrankheiten u. Pflanzenschutz*, **50**: 172.

OLIVEIRA, M. L. D' e BORGES, M. L.

1944a Estudo dos Virus das Cruciferas. I. Estirpes isoladas de Cruciferas espontâneas. *Actas do Congresso Luso-Espanhol para o Progresso das Ciências.* Cordoba.

1944b Estudo dos Virus das Cruciferas. II Estirpes isoladas de *Matthiola incana* (L.) R. Br. *Bol. Soc. Brot.* **19** (2.ª S.): 265-272.

SARDIÑA, J. R.

1943 Virosis de las Plantas. « Mosaico » de los Coliflores. *Est. Fitopat. Agric.. la Coruña, Memoria* 1942. Publication **23**: 32-37.

SMITH, KENNETH M.

1937 *A Textbook of Plant Virus Diseases.* London, J. & A. Churchill Ltd.

TOMPKINS, C. M.

1937 A Transmissible Mosaic Disease of Cauliflower. *J. agric. Res.* **55**: 33-46.

1938 A Mosaic Disease of Turnip. *Ibid.* **57**: 589-602.

1939 A Mosaic Disease of Radish in California. *Ibid.* **58**: 119-130.

TOMPKINS, C. M. ,and THOMAS, H. R.

1938 Black Ring, a Virus Disease of Cabbage and other Crucifers. *Ibid.* **57**: 929-943.

TOMPKINS, C. M., GARDNER M. W. and THOMAS, H. R.

1938 A Mosaic Disease of Chinese Cabbage. *Ibid.* **56**: 541-552.

LEGENDAS DA GRAVURA

Sintomas obtidos por inoculação em *Brassica oleracea* L.

A. — Clorose das nervuras. Grupo B1 (isolamento II).

B. — «Vein-banding». Grupo B3 (isolamento II).

C. — Aneis necróticos. Grupo B5 (isolamento IV).

D. — Manchas cloróticas circulares. Grupo B6 (isolamento II).

E. — Aneis necróticos. Grupo B8 (isolamento II).


A
B
E
C
D

NOVAS OBSERVAÇÕES SÔBRE A MORFOLOGIA, BIOLOGIA E FISIOLOGIA DE DOIS FUNGOS DO GÉNERO *PHYTOPHTHORA* DE BARY, PARASITAS DO CASTANHEIRO

POR *ANTÓNIO AUGUSTO LOPES PIMENTEL*

(Direcção Geral dos Serviços Florestais e Aqüícolas e Estação Agronómica Nacional)

O presente trabalho constitui, como pelo título se pode inferir, a continuação da nossa comunicação anterior, apresentada, em Dezembro de 1943, ao «I Congresso Nacional de Ciências Agrárias» e intitulada: «Estudo comparativo de dois fungos do género *Phytophthora* de Bary, parasitas do castanheiro».

Nessa comunicação, designámos por *Phytophthora A* o fungo que, em 1941 e 1942, foi por nós isolado de plantas de *Castanea sativa* Mill., *Juglans regia* L., *Pseudotsuga Douglasii* Carr. e *Quercus Robur* L., provenientes de vários viveiros florestais. Pouco depois de escrito e organizado o referido trabalho, tivemos ocasião de isolar o mesmo parasita de material colhido de um sobreiro (*Quercus Suber* L.) doente, na região de Alpiarça, e, em Setembro do ano findo (1), igualmente o obtivemos de plantas de *Betula alba* L. colhidas no viveiro do «Mondego» (Perímetro Florestal de Manteigas). Nessa mesma ocasião, voltámos a isolar êste fungo de castanheiros e nogueiras dos viveiros dos Perímetros Florestais da Covilhã, de Manteigas, das Serras de Montezinho e do Caramulo e de plantas de *Q. Robur* do viveiro de Amarante.

O fungo que denominámos *Phytophthora B* apenas nos foi possível isolá-lo, pelo menos até hoje, de plantas de *C. sativa* e num único lugar (viveiro de «Serradela» — Serra da Cabreira), como já tinhamos dito anteriormente.

Para uma mais fácil identificação dos locais em que os dois parasitas foram encontrados, indicamo-los no mapa anexo (fig. 1) e em separado para cada um dos hospedeiros que atrás considerámos.

As nossas mais recentes observações sôbre aquêles Ficomicetas,

---

(1) Em Agosto e Setembro de 1944 fizemos uma inspecção fitosanitária a todos os viveiros florestais.

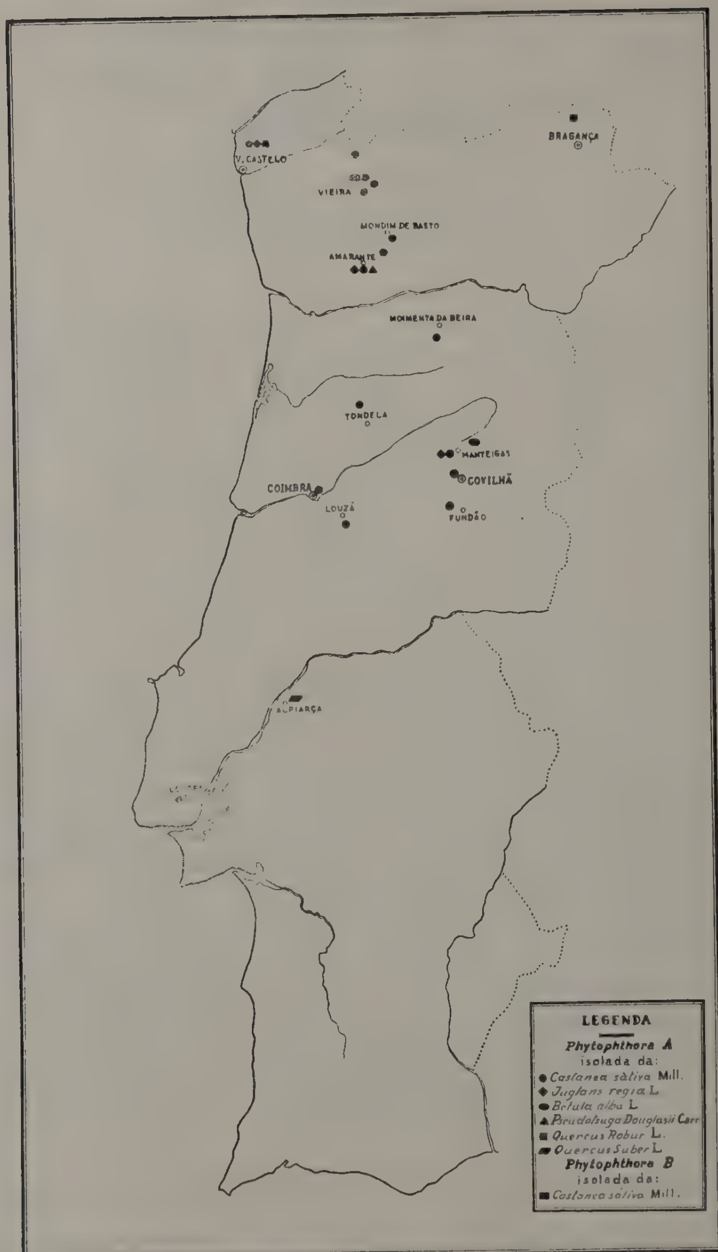

BRAGANÇA
V. CASTELO
VIEIRA
MONDIM DE BASTO
AMARANTE
MOIMENTA DA BEIRA
TONDELA
MANTEIGAS
COVILHÃ
COIMBRA
LOUZÃ
FUNDÃO
ALPIARÇA
LEGENDA
Phytophthora A
isolada da:
Castanea sàtiva Mill.
Juglans regia L.
Betula alba L.
Pseudotsuga Douglasii Carr
Quercus Robur L.
Quercus Suber L.
Phytophthora B
isolada da:
Castanea sàtiva Mill.

Fig. 1

cujos resultados neste trabalho descrevemos, dizem respeito, principalmente, à morfologia e biologia dos esporângios da *Phytophthora A*, os quais, finalmente, pudemos obter em grandes quantidades.

O estudo incidiu, também, sôbre a patogenicidade de ambos os parasitas, para o que efectuámos uma série de inoculações experimentais em várias espécies florestais, usando para a *Phytophthora A* as culturas obtidas dos diferentes hospedeiros.

Por último, tiramos algumas conclusões acêrca da identificação dos dois fungos, de acôrdo com os novos elementos morfológicos, biológicos e fisiológicos, agora obtidos, e a bibliografia mais recentemente consultada, em especial os últimos trabalhos de URQUIJO (1942 e 1942a) sôbre a *Phytophthora cambivora* (Petri) Buis.

ESPORÂNGIOS

Durante muito tempo tivemos grande dificuldade na obtenção, em cultura pura, dos esporângios da *Phytophthora A*. De tôdas as tentativas que fizemos para os obter em meio líquido, apenas conseguimos alguns exemplares e mesmo êsses em difíceis condições de observação. Na Primavera de 1944, porém, e depois de algumas tentativas infrutíferas, conseguimos que se formassem em grandes quantidades, fazendo intervir no processo empregado a acção biológica de um seu hospedeiro extremamente susceptível, a *C. sativa*. Usámos o método que a seguir descrevemos:

Inoculámos, ao nível do colo, plantas de castanheiro de um mês de idade, aproximadamente, e mantivemo-las, à temperatura do laboratório, em líquido nutritivo n.º 1 de Shive e Robbins, contido em balões de Erlenmeyer de 200 cc. O fungo, depois de ter invadido as raízes das plantas, desenvolveu-se exteriormente a elas, no líquido nutritivo, e foi nestes novos elementos, directamente ligados à planta, — e não no micélio que serve de inóculo, como afirma URQUIJO (1942) — que se formaram numerosos esporângios. A sua morfologia pôde ser fàcilmente observada retirando, através do líquido e com o auxílio de uma pinça, pequenas porções do micélio das quais fizemos preparações em lacto-fenol.

Os esporângios apresentam-se sempre isolados na extremidade de um esporangióforo não ramificado e, por vezes, bastante comprido (microfots. A e B). Possuem a forma elipsoidal ou oval, são desprovidos de papila, não hialinos e com as dimensões de

54-94 × 30-59 μ, M (100): 73,44 × 43,07 μ. Não encontrámos diferenças significativas na medição dos esporângios obtidos das culturas de diferente proveniência, quer quanto ao local, quer relativamente às essências florestais já mencionadas.

De modo idêntico ao que observámos na *Phytophthora B*, dá-se na *Phytophthora A* o fenómeno da «proliferação», sendo freqüentíssimos os esporângios duplos e triplos (microfots. B, C e D). Nalguns casos, o segundo ou terceiro dos esporângios formados fica exteriormente ao seu predecessor, assim como o esporangióforo pode crescer indefinidamente através da base do esporângio, depois dêste vazio. Os esporos, que se formaram em grandes quantidades, têm a forma globosa e o seu número em cada esporângio anda à volta de 18, com as dimensões de 9,5-12 μ (microfot. D). Não nos foi possível observar os cílios vibráteis.

Relativamente à *Phytophthora B*, o método para a obtenção de esporângios atrás descrito parece não dar resultado, tendo aquêles sido obtidos, em cultura pura, apenas em meios sintéticos minerais, líquidos e gelosados, como foi exposto no trabalho anterior.

INOCULAÇÕES EXPERIMENTAIS

Embora não tivessemos encontrado, até hoje, elementos de carácter morfológico que nos permitam estabelecer diferenças entre as várias culturas da *Phytophthora A*, de diferente proveniência, pareceu-nos que seria conveniente fazer, por meio de inoculações experimentais, o estudo comparativo do seu grau de patogenicidade e determinar o comportamento de cada uma delas não só para com as seis espécies florestais de que foram isoladas mas ainda para com outras de alguns dos géneros representados, em particular o castanheiro japonês (*Castanea crenata* Sieb. et Zucc.). Inoculámos, também, algumas plantas de espécies dos géneros *Pinus* L., *Cedrus* Mill., *Picea* Link. e *Abies* L.

Conjuntamente com estas inoculações e a título comparativo com a *Phytophthora A*, fizemos, igualmente, experiências de inoculação da *Phytophthora B* sôbre aquelas mesmas espécies.

No quadro I resumimos os resultados numéricos das inoculações que efectuámos em 1945.

A inoculações foram feitas por meio de uma ligeira incisão longitudinal, quer no caule de plantas de alguns mêses a 2 anos

de idade, quer nos ramos de exemplares com 3 e mais anos. Os números que apresentamos naquele quadro traduzem, no entanto, para cada uma das espécies inoculadas, e mesmo no conjunto, o resultado de experiências realizadas em circunstâncias tão idênticas quanto nos foi possível. As inoculações em exemplares de *J. regia* foram praticadas não só no caule como também na raiz.

As plantas foram cultivadas em vasos e mantidas ao ar livre, tendo as inoculações sido efectuadas durante os mêses de Maio e Junho. A cada grupo de 5 exemplares inoculados juntámos uma planta testemunha.

Devemos dizer aqui que, em todos os casos em que surgiram dúvidas sôbre a causa da morte das plantas,recorremos ao reísolamento do parasita, como prova confirmativa da sua acção letal. Foi o que fizemos, por exemplo, com alguns exemplares de *Cedrus*, *Pseudotsuga* e *Abies*, em que as necroses são pouco visíveis.

Como se depreende do referido quadro, a *C. sativa* é um hospedeiro da *Phytophthora A* extremamente susceptível pois que, salvo raríssimas excepções, as inoculações foram sempre positivas e êste resultado está de acôrdo com a enorme quantidade de exemplares que têm morrido nos viveiros. As necroses provocadas por êste parasita desenvolveram-se ràpidamente, mais no sentido longitudinal do que lateralmente, e em pouco tempo as plantas ou os ramos inoculados morreram.

Relativamente ao castanheiro japonês (*C. crenata* var. *Tamba*) e ao mesmo parasita, verificámos que as percentagens de inoculações positivas são bastante elevadas, mostrando, assim, que esta espécie florestal não é, de facto, resistente à infecção artificial, pelo menos nas primeiras idades, como jà tinham verificado URQUIJO (1942) e outros autores.

As inoculações da *Phytophthora A* em nogueiras (*J. regia*) sòmente foram positivas as que fizemos na raiz. Nas inoculações que praticámos no caule, produziu-se, algumas vezes, uma necrose mais ou menos extensa e profunda que finalmente estacionou, localizando-se a infecção sem que as plantas tivessem morrido.

O mesmo pudemos verificar nas inoculações feitas no caule de exemplares de *B. alba* e *B. pubescens* Ehrh., ainda que, no viveiro florestal atrás apontado, a percentagem de plantas da primeira destas espécies que encontrámos naturalmente infectadas fôsse quási de 100 %. Inoculando a raiz das referidas plantas talvez

pudessemos obter resultados positivos, certamente devido à influência favorável que a umidade do solo exerce na marcha da infecção. Cremos, no entanto, que o vidoeiro é mais resistente do que a nogueira.

Em plantas de *P. Douglasii*, *Abies Nordmaniana* Spach., *A. pectinata* D. C., *A. sibirica* Ledeb. e *Cedrus atlantica* Manet. as inoculações que efectuámos, utilizando o mesmo parasita, foram positivas, sendo totalmente negativas as realizadas em exemplares de *Pinus insignis* Dougl., *Picea Engelmannii* Engel. e *P. excelsa* Link.

Quanto ao sobreiro (*Q. Suber*) e relativamenta à *Phytophthora A*, apenas em ramos delgados, ainda sem a camada suberosa, obtivemos algumas inoculações positivas ou a formação de necroses que fàcilmente cicatrizaram. Em plantas de *Q. Robur* e *Q. rubra* L. observámos, também, algumas inoculações positivas. ainda que em percentagem mínima, como, aliás, sucedeu na *Q. Suber*.

Parece-nos de interêsse apontar aqui que sòmente nas inoculações feitas em plantas de *Q. rubra* se produziu a exudação de um líquido escuro e viscoso, como alguns autores dizem ter observado em castanheiros adultos.

Além destas inoculações, em que o fungo foi introduzido directamente nos tecidos corticais das plantas, procurámos, também, reproduzir a sintomatologia da doença por intermédio de terreno infectado naturalmente. Para isso, colhemos, nalguns dos viveiros em que se manifestou a doença e junto de plantas atacadas, porções de terra que deitámos em vasos, onde, em seguida, foram semeadas castanhas. A morte das plântulas deu-se depois de decorridos 40 dias, em média, após o seu nascimento, enquanto as testemunhas permaneceram verdes. O parasita foi fàcilmente isolado das necroses que aquelas apresentavam na raiz e base do caule. As experiências feitas com nogueiras e sobreiros, em que o terreno foi inoculado com culturas puras, deram resultado negativo.

No que diz respeito à *Phytophthora B*, obtivemos, também, inoculações positivas em plantas de *C. sativa*, *C. crenata*, *J. regia* *P. Douglasii*, *A. pectinata*, *A. sibirica* e *C. atlantica*.

Nos exemplares de *C. sativa* as necroses provocadas por êste fungo foram de desenvolvimento um pouco mais lento do que no caso da *Phytophthora A* e, algumas vezes, as plantas pareceram reagir, sendo localizada a infecção. A percentagem de inoculações positivas é, assim, inferior às que foram obtidas para

QUADRO I

Inoculações efectuadas em Maio e Junho de 1945

ESPÉCIES INOCULADAS	*Phytophthora A* isolada da:																														*Phytophthora B* isolada da:				
	Castanea sativa					*Juglans regia*					*Betula alba*					*Pseudotsuga Douglasii*					*Quercus Robur*					*Quercus Suber*					*Castanea sativa*				
	N.º inoc.	Positivas	Necr. loc.	Negativas	% in. pos.	N.º inoc.	Positivas	Necr. loc.	Negativas	% in. pos.	N.º inoc.	Positivas	Necr. loc.	Negativas	% in. pos.	N.º inoc.	Positivas	Necr. loc.	Negativas	% in. pos.	N.º inoc.	Positivas	Necr. loc.	Negativas	% in. pos.	N.º inoc.	Positivas	Necr. loc.	Negativas	% in. pos.	N.º inoc.	Positivas	Necr. loc.	Negativas	% in. pos.
Castanea sativa	20	19	0	1	95	10	9	0	1	90	10	10	0	0	100	10	10	0	0	100	10	9	0	1	90	10	10	0	0	100	20	17	3	0	85
» *crenata*	5	4	0	1	80	5	4	1	0	80	5	2	3	0	40	5	3	2	0	60	5	4	1	0	80	5	4	1	0	80	10	8	2	0	80
Juglans regia (1)	5	3	0	2	60	5	2	0	3	40	5	4	0	1	80	5	2	0	3	40	5	3	0	2	60	5	3	0	2	60	10	2	0	8	20
» »	5	0	2	3	0	5	0	1	4	0	5	0	0	5	0	5	0	0	5	0	5	0	2	3	0	5	0	1	4	0	10	0	0	10	0
Betula alba	5	0	2	3	0	5	0	3	2	0	5	0	1	4	0	5	0	1	4	0	5	0	2	3	0	5	0	1	4	0	10	0	0	10	0
» *pubescens*	5	0	2	3	0	5	0	2	3	0	5	0	1	4	0	5	0	1	4	0	5	0	3	2	0	5	0	4	1	0	10	0	0	10	0
Pseudotsuga Dauglasii	5	4	1	0	80	5	1	3	1	20	5	5	0	0	100	5	5	0	0	100	5	5	0	0	100	5	1	1	3	20	10	3	0	7	30
Quercus Robur	5	0	1	4	0	5	1	2	2	20	5	0	1	4	0	5	0	0	5	0	5	0	2	3	0	5	2	1	2	40	10	0	0	10	0
» *Suber*	10	4	2	4	40	5	0	1	4	0	5	0	3	2	0	5	3	1	1	60	5	2	0	3	40	5	0	4	1	0	10	0	0	10	0
» *rubra*	5	2	1	2	40	5	1	1	3	20	5	0	2	3	0	5	0	1	4	0	5	1	0	4	20	5	1	2	2	20	10	0	0	10	0
Pinus insignis	5	0	0	5	0	5	0	0	5	0	0	0	0	5	0	5	0	0	5	0	5	0	0	5	0	5	0	0	5	0	10	0	0	10	0
Cedrus atlantica	5	5	0	0	100	5	5	0	0	100	5	4	0	1	80	5	5	0	0	100	5	5	0	0	100	5	5	0	0	100	10	2	0	8	20
Picea Engelmannii	5	0	0	5	0	5	0	0	5	0	5	0	0	5	0	5	0	0	5	0	5	0	0	5	0	5	0	0	5	0	10	0	0	10	0
» *excelsa*	5	0	0	5	0	5	0	0	5	0	5	0	0	5	0	5	0	0	5	0	5	0	0	5	0	5	0	0	5	0	10	0	0	10	0
Abies Nordmaniana	5	4	1	0	80	5	5	0	0	100	5	4	1	0	80	5	5	0	0	100	5	5	0	0	100	5	3	0	2	60	10	0	5	5	0
» *pectinata*	5	4	0	1	80	5	5	0	0	100	5	4	1	0	80	5	5	0	0	100	5	5	0	0	100	5	5	0	0	100	10	1	1	8	10
» *sibirica*	5	4	0	1	80	5	5	0	0	100	5	5	0	0	100	5	4	1	0	80	5	5	0	0	100	5	5	0	0	100	10	3	4	3	30

(1) Inoculações na raiz.

a *Phytophthora A*, sendo bastante menores que aquela as verificadas para as cinco últimas espécies atrás consideradas. Já não sucede o mesmo para a *C. crenata*, em que essa percentagem é de 80 %, um pouco inferior à que encontrámos para a *C. sativa*.

Da análise do quadro atrás inserido e das considerações que acabámos de fazer, cremos que é possível concluir o seguinte:

1) Relativamente ao conjunto das espécies florestais que inoculámos, parece-nos que não existem diferenças significativas no grau de patogenicidade das culturas da *Phytophthora A*, obtidas dos diferentes hospedeiros. Apenas se nota uma certa irregularidade nos resultados das inoculações efectuadas em plantas do género *Quercus* L., sem dúvida devido a estas manifestarem uma resistência ao fungo bastante apreciável.

Igualmente não vemos que exista uma especialização por planta hospedeira visto que cada uma das referidas culturas do parasita atacou indistintamente diferentes essências florestais, como já URQUIJO (1942) tinha observado para as estirpes e variedades de *P. cambivora* por êle estudadas, embora se refira ùnicamente a inoculações em castanheiros e nogueiras.

Assim, por exemplo, o castanheiro tanto pôde ser parasitado pelo fungo que isolámos do sobreiro como pelo que foi obtido da nogueira ou do próprio castanheiro e sem que seja possível estabelecer qualquer diferença no comportamento dêstes organismos para com a referida espécie, no que diz respeito à virulência.

De um modo geral e ainda relativamente à *Phytophthora A*, as inoculações a que procedemos, conjuntamente com as observações que fizemos nos viveiros infectados, parecem mostrar que o castanheiro europeu (*C. sativa*) é, de entre os seis hospedeiros dos quais o fungo foi isolado, o mais susceptível estando, possìvelmente, em segundo lugar a nogueira comum (*J. regia*), pois que é muito elevado o número de exemplares que ùltimamente têm aparecido sêcos, ou com extensas necroses, nos referidos viveiros.

No referente à *B. alba* é prematuro tirar quaisquer conclusões decisivas.

As outras espécies florestais de que obtivemos aquêle parasita, ou que simplesmente foram inoculadas a fim de determinar a sua susceptibilidade ao mesmo e em que conseguimos resultados positivos, certamente possuem maior grau de resistência do que o castanheiro e a nogueira, embora as inoculações experimentais

nem sempre pareçam confirmá-lo, como aconteceu com algumas espécies dos géneros *Pseudotsuga*, *Cedrus* e *Abies* e com o próprio castanheiro japonês, nas quais as percentagens de inoculações positivas são realmente altas. O que, porém, podemos dizer é que sob certas condições, também podem ser parasitadas e que o facto de a infecção ser artificialmente provocada, a inoculação feita no caule ou raiz e a idade das plantas influem no resultado das experiências e, por conseguinte, nas conclusões a tirar quanto à resistência ou susceptibilidade das espécies florestais estudadas.

2) Quanto à *Phytophthora B*, as experiências de inoculação efectuadas parecem indicar que se trata de um parasita menos virulento do que a *Phytophthora A* porquanto as percentagens de inoculações positivas são, em quási todos os casos, inferiores às obtidas para êste último fungo. Exceptua-se apenas a percentagem encontrada para o castanheiro japonês, que é equivalente à que obtivemos para a *Phytophthora A*.

É de assinalar o facto de não se ter verificado nenhuma inoculação positiva em plantas do género *Quercus*.

Como se vê, êste parasita também não é específico.

CONCLUSÕES

Pelo que ficou exposto, neste e nos trabalhos anteriormente apresentados, acêrca das características morfológicas, biológicas e fisiológicas dos dois Ficomicetas de que nos temos ocupado, cremos que, finalmente, será possível estabelecer a sua posição taxonómica.

De acôrdo com a bibliografia que pudemos consultar, parece-nos que tanto o fungo que denominámos *Phytophthora A* como aquêle que descrevemos sob a designação de *Phytophthora B* podem ser considerados como estirpes de *P. cambivora*, sendo a primeira idêntica à que URQUIJO (1941) isolou em Espanha e a segunda muito afim da que foi descrita por ALLAIN (1935). A *Phytophthora A* poderá, assim, ser incluída no segundo grupo das estirpes e variedades daquela espécie que serviram de base ao estudo comparativo apresentado pelo primeiro dêstes autores, e a *Phytophthora B* possìvelmente no primeiro, constituindo, assim, os dois Ficomicetas um representante de cada grupo.

É certo que, entre os dois parasitas por nós isolados e as estirpes de *P. cambivora* de que atrás falámos, foram apontadas

certas diferenças de carácter morfológico, em especial no que diz respeito à grandeza dos esporângios e dos oogónios.

Se por um lado, essas diferenças podem ser atribuídas a métodos de investigação não estandardizados, por outro devemos tomar em consideração as afirmações de LEONIAN e GEER (1929) de que o elemento tamanho dos esporângios não pode ser considerado de importância primária na taxonomia do género, assim como não tem maior valor, a êste respeito, a apreciação da grandeza dos oogónios. Por conseqüência, é de admitir que não possamos atender, de uma maneira absoluta, às diferenças apontadas.

Refere-se, ainda, o primeiro dêstes autores (1927) à grande variabilidade das características morfológicas dos esporângios de diversas *Phytophthoras*, como resultado da influência de diferentes hospedeiros nos quais as mesmas foram inoculadas.

De um modo geral, segundo TUCKER (1931), os caracteres morfológicos são apenas de limitado valor na identificação das espécies do género *Phytophthora*, sendo considerado de maior interêsse taxonómico um conjunto de características morfológicas e fisiológicas em que o comportamento térmico e, em certos casos, a patogenicidade desempenham papel importante. Esta mesma opinião é compartilhada por LEONIAN (1925), embora as reacções fisiológicas em que a sua classificação é essencialmente baseada não sejam as mesmas que TUCKER adoptou.

Julgamos que não restam, porém, dúvidas de que a *Phytophthora A* é biológica e fisiològicamente diferente da *Phytophthora B*, apresentando, por exemplo, o primeiro dêstes parasitas um grau de patogenicidade e uma polifagia um tanto superiores aos do segundo, bem como existem marcadas diferenças nas condições favoráveis à formação dos respectivos esporângios, pelo menos em meio laboratorial.

Confirmando a opinião de URQUIJO (1942 e 1942a), a esta diferenciação biológica, que, na verdade, parece ser de maior amplitude do que a correspondente a simples estirpes ou mesmo variedades diferentes e não cabendo, por isso, dentro do conceito de espécie, corresponde uma diversidade, muito acentuada, de características morfológicas.

Além disso, as diferenças mencionadas por aquêle fitopatologista entre as diversas estirpes e variedades de *P. cambivora* constituintes dos dois grupos nos quais as mesmas foram, por

êsse motivo, divididas, bem como as que nós encontrámos entre a *Phytophthora A* e a *Phytophthora B*, são, de facto, equivalentes às que se verificam entre outras espécies do mesmo género.

Nestas condições, a criação de uma espécie de *Phytophthora* na qual sejam incluídas as estirpes e variedades que o mesmo autor englobou no segundo grupo, bem como outros organismos com caracteres idênticos, como o fungo que denominámos *Phytophthora A*, parece-nos muito justificada.

Esperamos que nos novos trabalhos de URQUIJO seja apresentada essa nova espécie micológica, eliminando-se, assim, as divergências existentes na literatura sôbre a *P. cambivora* e simplificando, ao mesmo tempo, a taxonomia desta espécie.

Dada a afinidade que supomos haver entre a *Phytophthora cinnamomi* Rands, actualmente considerada como uma estirpe de *P. cambivora*, e os parasitas que atrás mencionámos em penúltimo lugar, cuja característica principal é a existência dos clamidósporos, cremos, no entanto, não ser de excluir a ideia de se ter de reintegrar, como espécie bem definida, aquêle Oomiceta.

Julgamos, por isso, que seria conveniente procurar fazer prèviamente um estudo comparativo entre os referidos fungos, o que, pela nossa parte, tentaremos realizar, no prosseguimento dos nossos estudos sôbre a «doença da tinta» do castanheiro.

SUMÁRIO

O presente trabalho constitui a continuação daquele que, em Dezembro de 1943, se apresentou ao «I Congresso Nacional de Ciências Agrárias, Lisboa» e se intitulou: «Estudo comparativo de dois fungos do género *Phytophthora* de Bary, parasitas do castanheiro».

Nessa comunicação designou-se por *Phytophthora A* o parasita que, em 1941 e 1942, se tinha isolado de plantas de *Castanea sativa* Mill., *Juglans regia* L., *Pseudotsuga Douglasii* Carr. e *Quercus Robur* L. provenientes de vários viveiros florestais. Em 1943 também se obteve de material que se colheu de um sobreiro (*Quercus Suber* L.) doente, na região de Alpiarça, e em 1944 igualmente se isolou de plantas de *Betula alba* L. procedentes de um outro viveiro florestal.

O fungo que se denominou *Phytophthora B* apenas foi pos-

sível isolá-lo, pelo menos até agora, de plantas de *C. sativa* e num único viveiro florestal, como já se tinha dito anteriormente.

As mais recentes observações sôbre aquêles Ficomicetas, cujos resultados se expõem neste trabalho, dizem respeito à morfologia e biologia dos esporângios da *Phytophthora A*, dos quais ainda não se tinha podido obter senão um restrito número de exemplares.

O estudo incidiu, também, sôbre a patogenicidade de ambos os parasitas, para o que se efectuou uma série de inoculações experimentais em várias essências florestais, usando para a *Phytophthora A* as culturas que se isolaram dos diferentes hospedeiros, que atrás se mencionaram. Os resultados que se obtiveram indicaram claramente que tanto êstes fungos, que por apresentarem as mesmas características se englobaram sob a designação de *Phytophthora A*, como aquêle que se donominou *Phytophthora B* não são específicos. Verificou-se, além disso, que a *Phytophthora A* é mais virulenta do que a *Phytophthora B*.

As inoculações que se efectuaram em exemplares de castanheiro japonês (*Castanea crenata* Sieb. et Zucc. var. *Tamba*) mostraram que esta espécie florestal é susceptível à infecção artificial, pelo menos nas primeiras idades, como já tinha sido observado por alguns autores.

As plantas do género *Quercus* L. que se inocularam apresentam um grau de resistência a ambos os parasitas bastante apreciável.

Por último, expõem-se as conclusões sôbre a identificação dos dois Ficomicetas, confirmando-se aquelas que se mencionaram no trabalho anterior (1943). Assim, pela bibliografia que se consultou, supõe-se que a *Phytophthora A* e a *Phytophthora B* podem considerar-se como duas estirpes diferentes de *Phytophthora cambivora* (Petri) Buis., sendo a primeira idêntica à que URQUIJO (1941) isolou em Espanha e a segunda muito afim da que foi descrita por ALLAIN (1935).

Todavia, verifica-se entre os dois parasitas uma diferenciação morfológica, biológica e fisiológica evidente, que parece ser de maior amplitude do que a correspondente a simples estirpe ou mesmo variedades diferentes e equivalente à que existe entre outras espécies do mesmo género.

Idêntica diversidade de caracteres tinha sido já observada por URQUIJO (1941 e 1942) entre as diversas estirpes e variedades de

P. cambivora que serviram de base à sua revisão taxonómica, em conseqüência do que foram as mesmas divididas em dois grupos.

Nestas condições, a ideia de considerar os organismos englobados por êste fitopatologista no primeiro grupo, juntamente com a *Phytophthora B*, como sendo a autêntica *P. cambivora* e criar uma espécie de *Phytophthora* na qual se possam incluir não só os que constituem o segundo grupo mas também a *Phytophthora A* considera-se muito justificada.

Espera-se que nos novos trabalhos de URQUIJO seja apresentada essa nova espécie micológica, eliminando-se, assim, as divergências existentes na literatura sôbre a *P. cambivora* e simplificando, ao mesmo tempo, a taxonomia desta espécie.

Dada a afinidade que se supõe haver entre a *Phytophthora cinnamomi* Rands, actualmente considerada como uma estirpe de *P. cambivora*, e os parasitas que atrás se mencionaram em penúltimo lugar, cuja característica principal é a existência dos clamidósporos, crê-se, no entanto, não ser de excluir a hipótese de se ter de reintegrar, como espécie bem definida, aquêle Oomiceta.

Julga-se, por isso, conveniente procurar fazer prèviamente um estudo comparativo entre os referidos fungos.

FURTHER NOTES ON THE MORPHOLOGY, BIOLOGY AND PHYSIOLOGY OF TWO FUNGI OF THE GENUS *PHYTOPHTHORA* DE BARY, PARASITES OF THE CHESTNUT TREE

SUMMARY

The present study is a continuation of a paper: «Comparative study of two fungi of the genus *Phytophthora* de Bary, parasites of the chestnut tree», presented to the «First National Congress of Agrarian Sciences», Lisbon 1943.

The parasite, which in 1941 and 1942 had been isolated from young plants of *Castanea sativa* Mill., *Juglans regia* L., *Pseudotsuga Douglasii* Carr. and *Quercus Robur* L., coming from various forest nurseries in the north and centre of the country, was then designated as *Phytophthora A*. In 1943 the same fungus was also obtained from diseased material collected on a cork oak (*Quercus Suber* L.) in the region of Alpiarça (Tagus Valley) and in 1944 it was again isolated, this time from young plants of *Betula*

alba L. coming from still another forest nursery in the centre of the country.

In the meantime the other fungus referred to in that paper and there named *Phytophthora B* had only been isolated from young plants of *C. sativa* and in one only of the nurseries above mentioned.

The study of these two Phycomycetes has since then been continued and in the present paper the author describes in detail his recent observations regarding the morphology and biology of the sporangia of the *Phytophthora A*, of which only a limited number had at first been obtained. Herein are also considered the investigations on the pathogenicity of both parasites and a series of experimental inoculations were carried out on various objects among forest species, in which, in the case of the *Phytophthora A*, the cultures which had previously been isolated from various hosts were employed. The results obtained clearly indicate that neither these isolates which, by reason of their presenting the same characteristics, were included in the designation of *Phytophthora A*, nor the one which had been named *Phytophthora B*, were specific. It was moreover found that the *Phytophthora A* is more virulent than the *Phytophthora B*.

The inoculations proceded to on the Japanese chestnut (*Castanea crenata* Sieb. et Zucc. var. *Tamba*) proved that this species is liable to artificial infection at least at an early stage of its growth, as had already been observed by other authors.

Specimens of the genus *Quercus* L. which were inoculated showed an appreciable degree of resistence to both parasites.

Finally the identification of these Phycomycetes is attempted and the conclusions here arrived at entirely confirm those set forth in the previous paper.

For this reason and after a comparison with the information drawn from the literature consulted, it is supposed that the *Phytophthora A* and the *Phytophthora B* may be considered as two different strains of the *Phytophthora cambivora* (Petri) Buis., the first mentioned being identical with the one which was isolated by URQUIJO (1941) in Spain and the second very similar to the one described by ALLAIN (1935).

Nevertheless, on further examination the author found that a certain quite evident morphological, biological and physiological

differentiation existed between the two parasites, which seems to be of a higher order than the differences usually corresponding to the separation of simple strains or even of different varieties, and which can well be considered equivalent to the one existing between other species of this genus. In fact, the same diversity of characters among certain strains and varieties of the *P. cambivora* had already been observed by URQUIJO (1941 e 1942), who in consequence had them separated into two groups.

The author, whose findings in some respects confirm, and in part even amplify, those of this plant pathologist, believes that under such circumstances it is more than justified when, among the organisms dealt with in URQUIJO's taxonomic revision, one should solely consider those which constitute the first group as being the authentical *P. cambivora*, and for his part agrees that a new species of *Phytophthora* should be created, in which to include the organisms comprised in the second group, and in consequence his own *Phytophthora A*, while his *Phytophthora B* should find its place in the first group.

It is to be expected that URQUIJO will present this new mycological species in his next work. Thus the fundamental divergences found in the literature on the *P. cambivora* will disappear, which at the same time will bring about a simplification of the taxonomy of this species.

Owing to the affinity which it is supposed should exist between all the isolates which the author finds ought to be included in the second group mentioned — the chief characteristics of which is their having chlamydospores — and the *Phytophthora cinnamomi* Rands, now considered as a strain of *P. cambivora*, the possibility of the reintegration of this Oömycete as a quite well--defined species should however not be excluded.

Therefore, previously to any creation of a new species, it is thought advisable to attempt a comparative study of these fungi.

AGRADECIMENTOS

Queremos agradecer ao Prof. ANTÓNIO PEREIRA DE SOUSA DA CÂMARA, ilustre Director da Estação Agronómica Nacional, a honra que nos concede de trabalharmos neste Estabelecimente de investi-

gação científica, onde o presente trabalho e os que anteriormente apresentámos foram realizados.

Ao Prof. Dr. ANTÓNIO LOPES BRANQUINHO D'OLIVEIRA e Dr.ª D. MARIA DE LOURDES DE MELO INFANTE D'OLIVEIRA manifestamos, também, o nosso reconhecimento e gratidão pelos preciosos ensinamentos e valioso auxílio que amàvelmente sempre nos têm dispensado.

Agradecemos, igualmente, à Senhora D. MILDA WIBORG PIETRA TORRES os favores que nos prestou pela elaboração de alguns sumários em inglês.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLAIN, A.

1935 *Contribution à l'étude du Phytophthora cambivora. Morphologie, cytologie et action pathogène du parasite.* Typographie Firmin-Diot et Cie., Paris.

LEONIAN, L. H.

1925 Physiological studies on the genus Phytophthora. *Amer. J. Bot.* **12** (7): 444-498.

1926 The morphology and the pathogenicity of some Phytophthora mutations. *Phytopathology* **16** (10): 723-730. (Ref. in *Rev. appl. Mycol.* **6**: 189-190).

1927 The effect of different hosts upon the sporangia of some Phytophthoras. *Phytopathology* **17** (7): 483-490. (Ref. in *Rev. appl. Mycol.* **7**: 59-60).

LEONIAN, L. H., and GEER., H. L.

1929 Comparative value of Phytophthora sporangia obtained under standard conditions. *J. agric. Res.* **39** (4): 293-311.

PIMENTEL, A. A. LOPES

1942 Primeiras notas para o estudo de uma doença do castanheiro e nogueira, observada nos viveiros florestais e causada por um Ficomiceta. *Publ. Direc. ger. Serv. flor. aqüíc., Lisboa* **9** (2): 172-192.

1943 Estudo comparativo de dois fungos do género *Phytophthora* de Bary, parasitas do castanheiro. Comunicação apresentada ao «I Congresso Nacional de Ciências Agrárias», Lisboa.

1944 O sobreiro também é parasitado pela *Phytophthora cambivora* (Petri) Buis., agente da «doença da tinta» do castanheiro. Comunicação inédita.

TUCKER, C. M.

1931 Taxonomy of the genus Phytophthora de Bary. *Bull. Mo. agric. Exp Sta.* **153**. (Ref. in *Rev. appl. Mycol.* **10**: 754-755.)

URQUIJO LANDALUZE, P.

1941 Enfermedad de la «tinta» del castaño. *Publ. Estac. Fitopat. agric. Coruña* **20**: 13-31.

1942 Nuevas investigaciones sobre la enfermedad de la «tinta» del castaño. *Bol. Pat. veg. Ent. agric., Madr.* **11**: 13-42.

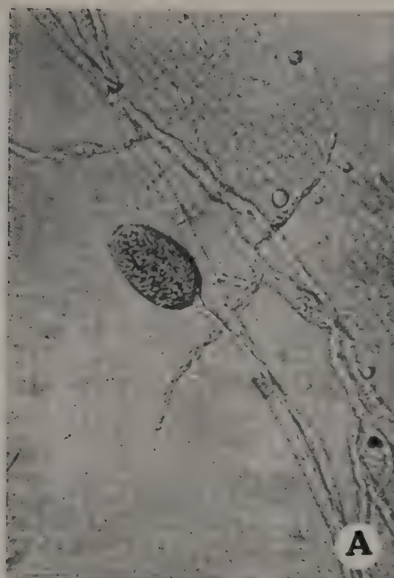
1942a Enfermedad de la «tinta» del castaño (*Phytophthora cambivora* Petri). *Publ. Estac. Fitopat. agric. Coruña* **23**: 21-32.

LEGENDAS DA GRAVURA

Microfot. A — Esporângio da *Phytophthora A*, obtido em meio de Knop (× 250).

Microfots. B e C — Esporângios da *Phytophthora A*, obtidos por intermédio de plântulas de *Castanea sativa* Mill. Dois deles apresentam-se duplos (× 280).

Microfot. D — Esporângio duplo da *Phytophthora A*, obtido pelo mesmo processo. O segundo dos esporângios formados mostra-se diferenciado, vendo-se nìtidamente os esporos (× 320).


A


B


C


D

ACÇÃO DA TEMPERATURA SÔBRE A NINFOSE DO *DACUS OLEAE* GMEL. *

I — TEMPERATURAS CONSTANTES E BAIXAS TEMPERATURAS

POR *GABRIEL DE MAGALHÃES SILVA*
(Estação Agronómica Nacional)

No ciclo biológico do *Dacus oleae* Gmel é a fase larvar aquela que produz os estragos, cujo valor faz considerar esta praga em Portugal como uma das de maior importância económica. Devido, no entanto, ao abrigo que lhe é oferecido pelo fruto, seu habitat natural, o ataque a esta fase é de difícil concepção e execução. Por êsse facto, são as fases de pupa e de imago as que maior interêsse oferecem a um estudo com vista à determinação dos mais eficazes meios de luta.

Para a fase pupa acresce ainda a característica de ser aquela em que o insecto quase exclusivamente atravessa o inverno. A sua viabilidade e resistência às condições adversas dessa estação condicionam decerto fortemente uma infestação de grande ou pequena intensidade no ano seguinte (BUA, 1934; BARANOV, 1939).

Nestas circunstâncias, numa pretendida tentativa de previsão do ataque da môsca da azeitona surge logo a ideia de procurar exprimir numèricamente a acção dos agentes físicos, calor e umidade em especial, principais factores a considerar naquela resistência (WARDLE, 1930; IMMS, 1931).

Apresentam-se neste trabalho os primeiros resultados de algumas experiências efectuadas com essa finalidade na Estação Agronómica Nacional, referentes particularmente à acção das baixas temperaturas sôbre a ninfose e à duração desta fase sob diversas temperaturas constantes.

* * *

Prolongaram-se os nossos ensaios regularmente durante alguns meses. Era, por êste facto, necessário pôr de pé, não só

* Trabalho apresentado ao Congresso Luso-Espanhol para o progresso das Ciências — Porto 1942.

para esta série de ensaios mas também para tôdas as outras, uma organização de rotina que a espaços iguais nos fornecesse pupas de idade conhecida em número apreciável. Adoptámos um processo que nos deu resultados satisfatórios, pois se mostrou capaz de fornecer um grande número de pupas diàriamente e por um longo período de tempo em condições de confiança. Consistia êle em obter as pupas de algodão colocado em tabuleiros, sôbre o qual se havia estendido uma camada de frutos larvados. As larvas, saindo dos frutos depois de atingir o seu completo desenvolvimento, encontram no algodão um óptimo abrigo para sofrer a mudança de fase.

O algodão era substituído todas as manhãs, retirando-se as pupas em formação e as larvas. Todo êsse material era introduzido numa estufa a 25°, temperatura por nós considerada a priori como óptima, e onde ainda no mesmo dia pupavam os indivíduos restantes.

Com esta organização ainda em Março obtínhamos algumas pupas, necessárias para outros ensaios no campo.

ACÇÃO DAS TEMPERATURAS CONSTANTES

As pupas, por lotes de 30 em placas de Petri, foram introduzidas no dia seguinte ao da sua formação em estufas às temperaturas de 15°, 20°, 25°, 30° e 35°. Tôdas as tardes, entre 16,30 e as 17,30 h. eram observadas as placas e registadas as emergências.

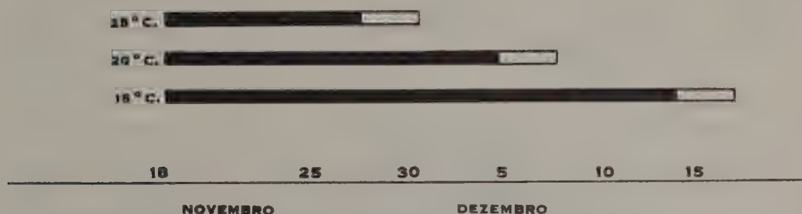
O número de emergências e as durações dos períodos de ninfose às diversas temperaturas vêm expressas no Quadro I, onde no entanto faltam os registos referentes a 30° e 35°, em que não verificámos emergências.

QUADRO I

Temperaturas	Número de dias																		
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
15°																	4	21	9
20°								26		2									
22°			56	248	113	17													
25°	43	437	421	50	1														

Com os valores dêste quadro se construiu o Gráfico I.

Gráfico I

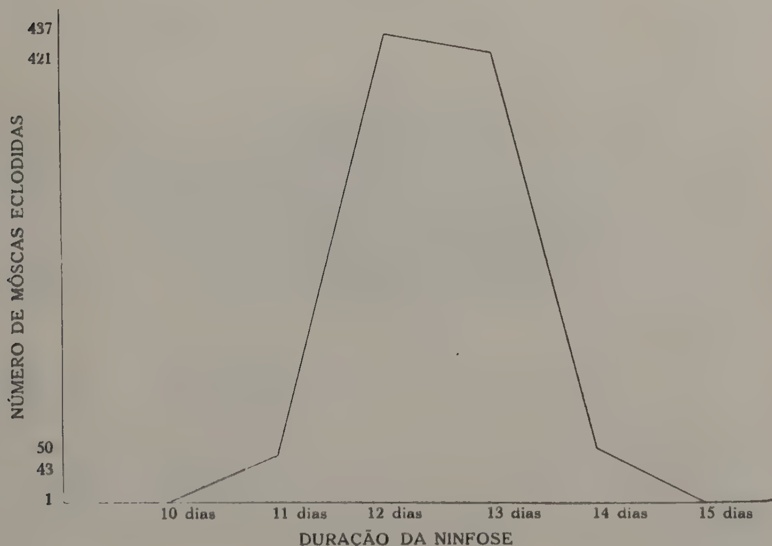


Nêste gráfico e nos análogos seguintes representou-se a traço negro o tempo de ninfose e a branco a duração do período de eclosões.

Os valores observados para os dias de máxima emergência são então: 12 dias para 25°, 18 para 20° e 28 para 15°.

No decorrer do ano tivemos ainda várias placas a 25°, servindo de testemunhas a outros ensaios. Verificámos então, não haver diferença sensível entre os períodos de ninfose dos insectos das várias gerações. Reunindo tôdas essa emergências (cêrca de 1000) num só gráfico, elas distribuem-se do seguinte modo (Gráfico II).

Gráfico II



Não nos foi possível nêste primeiro ano de ensaio, nem êsse era o nosso intento, determinar com todo o rigor tôdas as características térmicas da fase pupa do *Dacus oleae* em Portugal, em especial a constante térmica e limiar do desenvolvimento. No entanto, não quizemos deixar de calcular os nossos primeiros resultados para servirem de padrão a futuras determinações. Nestas circunstâncias, no conhecimento da duração dos diferentes períodos de ninfose às 4 temperaturas estudadas e tendo em conta a relação que liga essas grandezas $(T\text{-}L)\,N = K$ (CHAPMAN, 1931), em que K é a constante térmica, L o limiar do desenvolvimento e N o número de dias de ninfose à temperatura T, obtinhamos, substituindo os respectivos pares de valores de N e T, 4 equações e 2 incógnitas (K e L). Resolvendo-se 2 a 2 em tôdas as combinações possíveis, determinámos 6 pares de valores para L e K. Não foram naturalmente iguais todos os valores calculados, mas 3 vezes nos apareceram repetidos os valores $K = 180°$ e $L = 10°$.

A título de curiosidade, é interessante comparar os períodos de ninfose observados em laboratório com aquêles verificados no solo, onde chegaram a atingir 121 dias, o que mostra a extrema variabilidade da ninfose e a primordial influência que sôbre ela exerce a temperatura.

ACÇÃO DAS BAIXAS TEMPERATURAS

Para a exposição ao frio as pupas, por lote de 30 em cada placa de Petri, eram introduzidas num frigorífico.

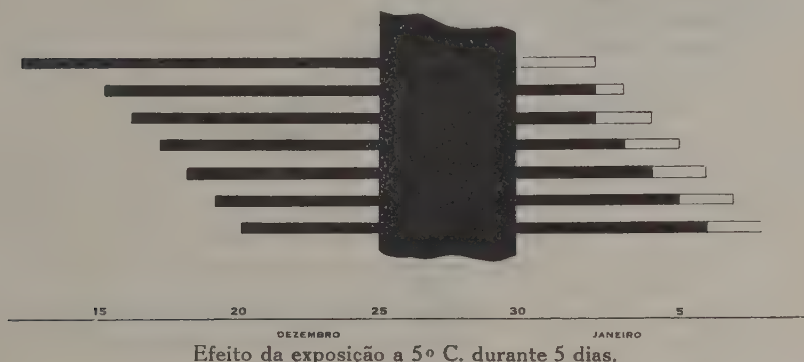
Como as pupas provinham da estufa a 25°, antes de serem submetidas à acção do frio, conservavam-se algum tempo (5 a 10 minutos) à temperatura ambiente, para não ser muito brusca a transição. A mesma precaução se tomava quando cada placa, saindo do frigorífico após o seu respectivo tempo de exposição, voltada para a estufa de recepção (25°).

Ensaiaram-se 3 temperaturas: 5°, 7° e 0° (ou antes $-2°$ — $+2°$, pois não pudémos impedir esta oscilação nêsse caso). Em cada uma delas se procurou comparar o comportamento das diferentes idades das pupas à data da acção frigorífica, porquanto os dois fenómenos de histólise e histogénese, opostos, consecutivos e complementares ao longo da fase, deveriam ser desigualmente influenciados pelo frio. Para êsse fim íamos todos os dias reser-

vando lotes de pupas recém-formadas, de modo que, ao fim de alguns dias, dispunhamos de pupas de todas idades, desde as do próprio dia até outras prestes a emergir.

Os tempos de exposição a cada temperatura foram variáveis: 5 e 11 dias para 5°, 10 dias para 7° e 1 dia apenas para 0°.

Gráfico III



Efeito da exposição a 5° C. durante 5 dias.

Analisando separadamente os efeitos do frio produzidos pelas várias temperaturas, varificamos diferenças nítidas nessa acção. Assim, como se pode observar nos gráficos que apresentamos (1), a 5° (Gráfico III) pode afirmar-se que para a exposição de 5 dias

Gráfico IV



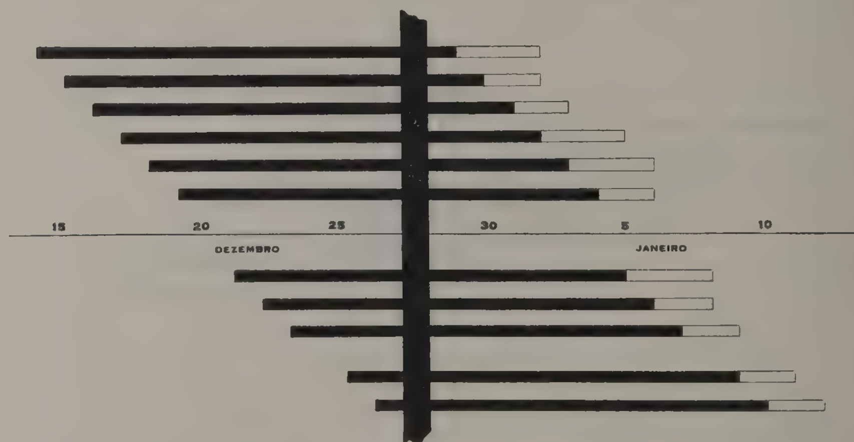
Efeito da exposição a 5° durante 11 dias

não houve retardamento, pois que foi sempre de 12 dias a duração da ninfose, se abstrairmos do período da acção do frio.

(1) As faixas negras representam os períodos de exposição ás baixas temperaturas.

Para uma exposição de 11 dias à mesma temperatura (Gráfico IV), a duração da ninfose foi de 14 dias para as pupas de tôdas as idades. Houve já aqui um pequeno retardamento.

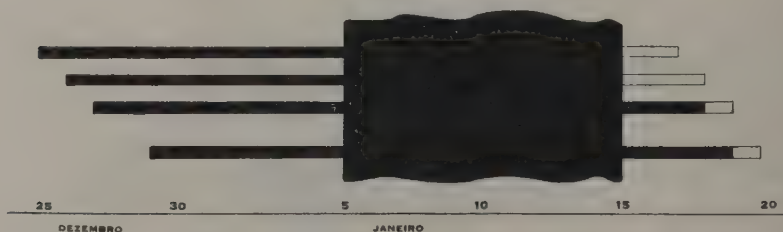
Gráfico V



Efeito da exposição a 0° C. durante 1 dia

Um dia a 0° (Gráfico V) produziu um retardamento real, pois a duração do período subiu para 13 e 14 dias respectivamente para as pupas mais novas e para as mais antigas.

Gráfico VI



Efeito da exposição a 7° C. durante 10 dias

A acção de 7° de temperatura durante 10 dias (Gráfico VI) não foi já retardadora. Os períodos de ninfose registados de 10-11-12 dias mostram que houve desenvolvimento sob a temperatura baixa. A regularidade das emergências, assinalada nos ensaios anteriores, falta aqui. Não é isso de estranhar, no entretanto, pois que, se estiver entre 9° e 10° o limiar do desenvolvi-

mento, a sua proximidade em relação a 7° é suficiente para explicar um comportamento pouco preciso nas vizinhanças de uma temperatura crítica. Na verdade, não sendo provàvelmente o limiar do desenvolvimento uma temperatura exacta inibindo a mudança de fase, mas antes uma faixa de temperaturas, pois não é de supôr que numa grande população as diferenças individuais não sejam suficientes para impôr uma variação nesse ponto, é natural que não seja muito regular e perfeitamente idêntico o comportamento de todas as pupas.

Em resumo, abaixo de uma certa temperatura, o frio parece exercer um retardamento superior ao tempo da sua acção; a temperaturas um pouco mais elevadas, êsse retardamento só existe quando a sua acção é prolongada e, finalmente, próximo do limiar do desenvolvimento a acção retardadora é inferior ao tempo da sua acção.

SUMMARY

In a first series of tests, the influences of temperature on the nymphosis period of *Dacus oleae* Gmel were studied.

It has been found that the optimum developmental temperature is about 25° C.; at this temperature the length of the pupal stage was 12-13 days; at 20° C. and at 15° C. it lasts for 18 and 28 days, respectively.

No marked difference has been noted in the nymphosis periods of the different generations throughout the year. The effects of low temperatures upon the lenght of nymphosis were investigated by subjecting batches of pupae to temperatures of 0° C., 5° C. and 7° C. Below a certain temperature (between 0° C. and 5° C.), cold effects a delay in nymphosis longer than the time of its action; at a little higher temperatures, there is such a delay only for the longest time of cold exposure (11 days); and finally, near the threshold of development, the time of delay is lower than the time of action of the cold.

BIBLIOGRAFIA

BARANOV, N.
1939 Maslinova musica. *Arkh. Min. Pol'oprivr* **6**: 3. Belgrado (Ref. *Rev. Appl. Ent.* **28**: 237).

BUA, G.
1934 I factori meteorologici e la mosca dell'olivo. *L'Olivicoltore* **680**. (Ref. *Rev. appl. Ent.* **22**: 508).

CHAPMAN, R. N.
1931 *Animal ecology*. McGraw-Hill Book Company, Inc. New York and London.

IMMS, A. D.
1931 *Recent advances in Entomology*. J. & A. Churchill, London.

WARDLE, R. A.
1930 Significant variables in the blow-fly enviroment. *Ann. App. Biol.* **17**: 554.

O ESPAÇO TRIDIMENSIONAL EM FILOMETRIA

SÔBRE O REGISTO E TRANSFORMAÇÃO DAS OBSERVAÇÕES FILOMÉTRICAS NA *VITIS VINIFERA* L.

POR *ACÚRCIO RODRIGUES*
(Estação Agronómica Nacional)

O desenvolvimento, em superfície, das fôlhas das diferentes plantas depende do tipo da prefoliação, da forma e do recorte próprios, da organização do sistema nerval, da sua constituïção anatómica, muito especialmente da consistência das nervuras e da cutinização da epiderme, etc..

Assim, por exemplo, nas fôlhas inteiras, peninérveas, de prefolheatura conduplicada, como na *Prunus avium* L. ou na *P. Persica* (L.) Stokes, o desenvolvimento inicial do limbo faz-se segundo dois planos que se interceptam na nervura principal, rectilínea. Porém, no processo do crescimento, as primeiras conservam sempre a nervura principal rectilínea e a fôlha expande-se num plano; nas segundas, a nervura principal encurva e a fôlha apresenta-se, mais ou menos, dobrada em goteira. A planificação total destas fôlhas é impossível, tão sòmente podemos planificar, em separado, as duas abas do limbo, dobrando-as pela nervura principal.

Mas, porque a cutinização destas fôlhas não é muito pronunciada, pelo emmurchecimento a nervura principal torna-se mais ou menos rectilínea e a planificação total é muitas vezes possível.

Outro tanto não acontece, por exemplo, nas fôlhas de *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl., *Citrus Aurantium* L. ou *Quercus Suber* L., de epiderme fortemente cutinizada que impossibilita a planificação total e até a sobreposição das duas abas.

Nas fôlhas palminervadas de *Vitis vinifera* L., por exemplo, de prefoliação conduplicada ou eqüitante, o desenvolvimento inicial faz-se segundo dois planos que se interceptam na nervura principal mediana, depois, o crescimento das regiões correspondentes às diferentes nervuras principais individualiza-se, podendo concordar ou não com um plano o desenvolvimento em superfície da fôlha.

Em trabalho anterior (RODRIGUES, 1942), apresentámos as normas para a aplicação prática, nos estudos de filometria, de um método ampelométrico, por nós estabelecido; e posteriormente (RODRIGUES, 1943), fizemos a sua generalização à Pomologia sistemática, na caracterização da forma das fôlhas e dos frutos.

A primeira operação a efectuar, para a aplicação do método proposto, é a medição das coordenadas de um certo número de pontos do contôrno, em relação aos dois eixos convenientemente escolhidos, ou a execução dos seus fotogramas.

Ora, se com as fôlhas planas, ou planificáveis, de algumas pomóideas e prunóideas ou de certas variedades do género *Vitis*, é fácil o perfeito ajustamento sôbre uma escala milimétrica plana, outro tanto não sucede com as fôlhas dobradas em goteira, por encurvamento, mais ou menos pronunciado, da nervura principal, ou nas fôlhas de grande parte das castas de *Vitis vinifera* L., em que a porção de parênquima compreendida entre as nervuras principais não é planificável, quando estas assentam num plano, sobretudo nos lóbulos anteriores das fôlhas.

Porque as causas, e as configurações, são bastante diferentes, diversos terão que ser os processos para uma precisa definição da forma.

Se fizermos o ajustamento da nervura principal de uma fôlha dobrada em goteira com o eixo de referência da escala milimétrica, como foi indicado no trabalho já citado, o limbo fica mais ou menos ondulado e a leitura das coordenadas dos diferentes pontos do contôrno é impossível ou difícil e imprecisa. Porém, se encurvarmos convenientemente a escala, o limbo adapta-se perfeitamente ao reticulado milimétrico e a leitura dessas coordenadas faz-se com a maior facilidade e rigor. Define-se assim, rigorosamente, o contôrno da fôlha, medindo as coordenadas de um número suficiente de pontos, ou executando o seu fotograma, com a fôlha nessa posição. Se determinarmos agora a curvatura da escala milimétrica, pelas coordenadas de diferentes pontos em relação aos dois eixos ortogonais, definimos, numèricamente, a forma da fôlha num espaço a três dimensões.

Na prática, e para uma dada variedade, a curvatura da escala necessária a uma aceitável adaptação do limbo pode manter-se

para tôdas as fôlhas, o que facilita enormemente o ajustamento das curvas médias.

Para a medição das coordenadas, dos diferentes pontos necessários à definição do contôrno, o cartão que serve de suporte ao papel milimétrico, com os dois eixos de referência, flecte-se por meio de um fio (Est. I) ou de outro dispositivo simples, regulável, no grau necessário a uma boa adaptação do limbo na escala milimétrica.

O ajustamento da nervura principal ao eixo vertical do papel milimétrico pode fazer-se por meio de dois alfinetes, como está indicado na Est. I, o que permite realizar còmodamente, e com a maior precisão, a leitura das coordenadas dos diferentes pontos do contôrno.

Quando é possível sobrepor as duas abas, pode efectuar-se a determinação do encurvamento da nervura principal colocando a fôlha dobrada sôbre uma fôlha de papel milimétrico, assente num plano, com dois eixos ortogonais convenientemente marcados. Faz-se coincidir o vértice da nervura com a origem das coordenadas, e a base dessa nervura com o eixo das ordenadas, disposto verticalmente, e lêem-se as coordenadas dos diferentes pontos que bastem para definir a curvatura da nervura principal da fôlha. Mais rigorosamente ainda, pode definir-se a curvatura da nervura principal pelo fotograma da fôlha dobrada.

Como dissemos, a planificação total das fôlhas das diferentes castas de *V. vinifera* é, na maior parte dos casos, impossível. Podemos sim, planificar de uma maneira mais ou menos perfeita, independentemente, as regiões foliares correspondentes a cada uma das nervuras principais: interceptando-se, reciprocamente, os planos correspondentes às regiões contíguas pelas linhas que unem a base das nervuras principais — ponto comum a todos os planos — com os pontos mais reentrantes dos seios laterais ou, na falta dêstes, com os vértices dos ângulos reentrantes, formados pelos dentes que limitam as diferentes regiões.

Em bastantes casos — na grande maioria — pode fazer-se a planificação simultânea das regiões correspondentes às quatro nervuras principais laterais, sem forçar o curso e a disposição natural dessas nervuras, isto é, assentando a fôlha, naturalmente,

numa prancheta. Nestas circunstâncias, o lóbulo correspondente à nervura principal mediana dispõe-se numa superfície cónica cuja intercepção com o plano da prancheta é definida pelas linhas que unem os pontos mais reentrantes dos seios laterais superiores com a base da nervura principal mediana.

Supondo agora que assentam em planos diferentes os lóbulos laterais de uma e da outra aba da fôlha, a planificação do lóbulo principal realizar-se-ia por rotação, em sentido contrário, dos planos laterais em tôrno de um eixo perpendicular à nervura principal mediana e interceptando esta na sua base.

A superfície total da fôlha (Fig. 1 e Est. II) ficaria assim sectorialmente planificada em três planos dispostos obliquamente e cuja intercepção coincide com a base das nervuras principais.

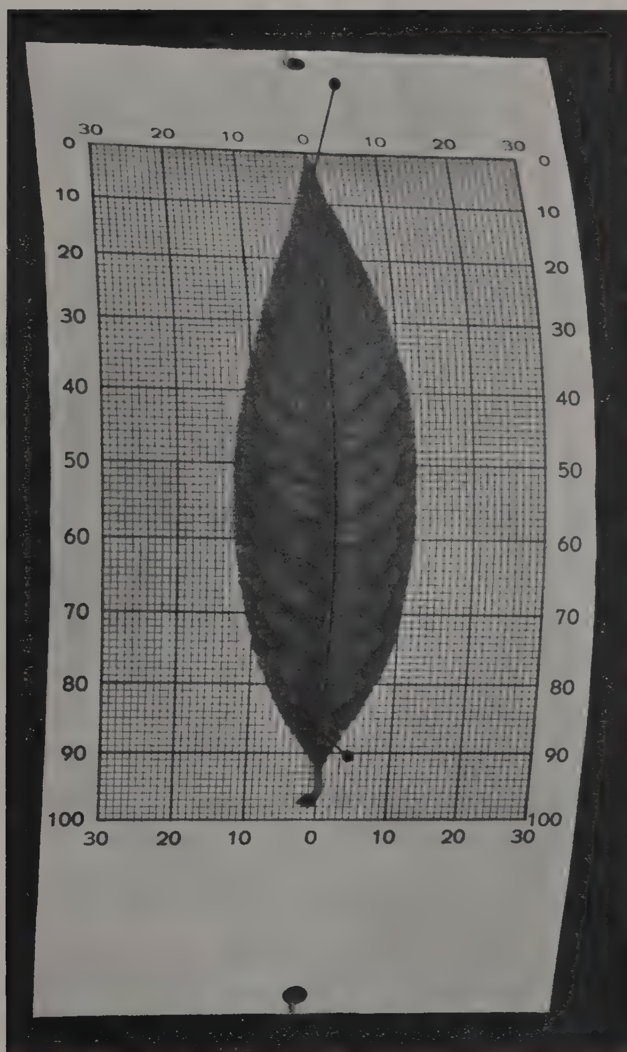
Se os dois lóbulos laterais de cada uma das abas não assentam no mesmo plano, em lugar de três, necessitamos de cinco planos para a completa justaposição da fôlha.

Naturalmente, e nos casos mais freqüentes, as fôlhas de videira podem desenvolver-se num único plano; segundo dois planos, quando se não podem planificar conjuntamente os lóbulos laterais, de uma das abas, com o lóbulo principal e os lóbulos laterais da outra metade; segundo três planos, o mais geral, já descrito; em quatro ou cinco planos, e mesmo em seis ou sete, por subseccionamento dos lóbulos laterais inferiores. A intercepção dêsses planos apresenta-se sempre, mais ou menos, atenuada por uma superfície curva.

Nas fôlhas simétricas — aquelas que devemos utilizar nos estudos de caracterização — o número de planos é sempre ímpar.

A maneira prática de efectuar as medições necessárias para uma representação, exacta e completa, da forma e da planimetria da fôlha desenvolvida segundo três planos, é a seguinte:

Coloca-se a fôlha, naturalmente, sôbre o reticulado milimétrico, com os dois eixos ortogonais convenientemente marcados; faz-se coincidir a nervura principal mediana com o eixo vertical e o vértice desta nervura com a origem das coordenadas. Fixam-se, com alfinetes, os vértices das nervuras principais laterais e a base dessas nervuras; lêem-se as coordenadas dos pontos mais reentrantes dos seios laterais superiores e dos pontos necessários


0 30 20 10 0 10 20 30 0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100 30 20 10 0 10 20 30 100

a uma boa representação do contôrno dos lóbulos laterais; seguidamente, fixa-se o vértice da nervura principal mediana, libertam-se os vértices das primeiras nervuras principais laterais e planifica-se o lóbulo principal da fôlha; por fim, lêem-se as novas coordenadas

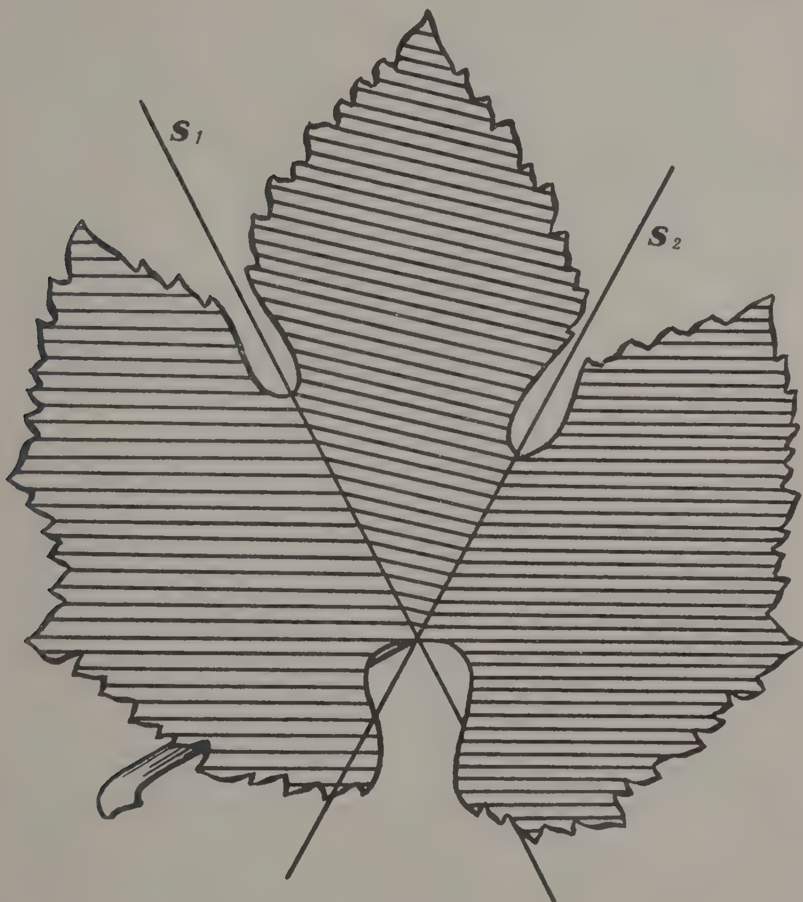


Fig. 1

dos pontos mais reentrantes dos seios laterais superiores e as coordenadas dos pontos necessários para a definição do contôrno do lóbulo principal.

Desta maneira, ficamos com os registos necessários para uma boa representação de todo o contôrno da fôlha, e — com as

quatro projecções dos dois pontos mais reentrantes dos seios laterais superiores — os elementos precisos para a planimetria completa da fôlha. De facto, a boa esquematização do contôrno da fôlha depende, simplesmente, do número e do critério de escolha dos pontos cujas coordenadas medimos; os três planos ficam definidos, cada um deles, por duas linhas concorrentes, que são: para os planos laterais, o eixo de rotação, perpendicular à nervura principal mediana, e as intercepções dêsses planos com o plano do lóbulo principal; para o plano correspondente ao lóbulo mediano, as linhas de intercepção dêsse plano com os planos laterais. Relativamente ao plano central, ainda possuimos um terceiro elemento que é constituido pela linha que contém a nervura principal mediana, coplanar com os eixos de rotação dos planos laterais.

Nas fôlhas simétricas, as quatro referidas projecções dos pontos mais reentrantes dos seios laterais superiores localizam-se sôbre um mesmo arco de círculo, com centro no ponto de inserção peciolar.

Para se fazer a planificação do lóbulo central, conservando planificados os lóbulos laterais, as projecções dos pontos mais reentrantes dos seios laterais superiores, obtidas pela planificação dos lóbulos laterais, descrevem, quando se efectua a rotação dos planos laterais, arcos de círculo, em sentido contrário, sôbre os planos de perfil que elas definem, e que terminam no plano de nível que contém as projecções dêsses mesmos pontos por planificação do lóbulo central sôbre o reticulado milimétrico.

Na Fig. 2, representamos pelos pontos P_1 e Q_1, as posições dos pontos mais reentrantes dos seios laterais superiores quando da planificação dos lóbulos laterais, das duas abas, sôbre o papel milimétrico; pelos pontos P_2 e Q_2, as posições dos mesmos pontos na planificação do lóbulo central; pela recta *a*, a projecção da nervura principal mediana, coincidente, na planificação do lóbulo central, com o eixo coordenado do papel milimétrico; e pela recta *n*, o eixo de rotação dos planos correspondentes aos lóbulos laterais da fôlha. O ponto D corresponde ao ponto de inserção peciolar.

Para se determinarem as projecções dos segmentos $\overline{DP}$ e $\overline{DQ}$ que definem as intercepções dos planos dos lóbulos laterais com o plano do lóbulo central, basta fazer descrever aos pontos P_2 e Q_2

Fig. 2

arcos de círculo, em sentido contrário, em tôrno de *a*, até encontrarem os planos de perfil definidos pelos pontos P_1 e Q_1. Cada um dos planos fica assim definido por duas rectas concorrentes: o plano central, projectante horizontal, pelas projecções dos segmentos $\overline{DP}$ e DQ; os planos laterais, paralelos á LT, pelas projecções da recta *n* e dos segmentos $\overline{DP}$ e $D\bar{Q}$, respectivamente.

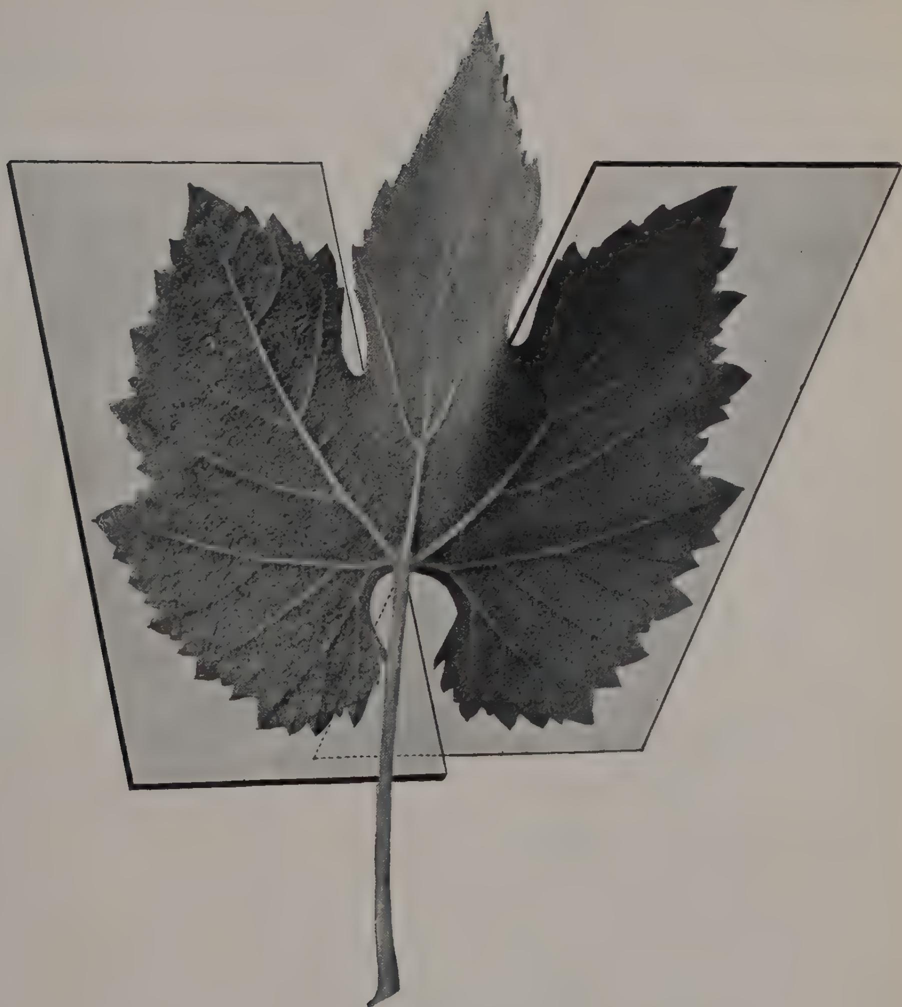
Quando as fôlhas se desenvolvem, naturalmente, num maior número de planos, seguem-se raciocínios e processos semelhantes relativamente aos seios que separam os outros planos.

Para a organização dos registos filométricos, referentes à *Vitis vinifera*, as notações empregadas estão indicadas na Fig. 3. Assim, designamos pela letra **A**, o vértice da nervura principal mediana e os vértices das ramificações dessa nervura, fazendo variar o corpo da letra segundo a ordem de ramificação e afectando-a de um índice conforme a posição relativa. Designam-se pela letra **B**, os vértices das primeiras nervuras principais laterais, e, obedecendo às mesmas regras, os vértices de tôdas as ramificações dessas nervuras. De igual modo, designamos pela letra **C** as segundas nervuras principais laterais e suas ramificações.

Porque temos de distinguir em cada metade do limbo, relativamente às nervuras principais laterais, as ramificações da parte anterior e da parte posterior da fôlha, afectaremos de um apóstrofe as notações correspondentes às ramificações da parte anterior. Representa-se pela letra **D**, o ponto de inserção peciolar, base das nervuras principais, e pela letra **S**, os pontos mais reentrantes dos seios laterais, ou os vértices dos ângulos reentrantes formados pelos dentes das diferentes regiões nervais, nos pontos de contacto dessas regiões.

Utilizando as notações referidas organizaram-se as fichas para o registo das observações filométricas, que se subdividem em duas modalidades: uma, para o registo das coordenadas dos pontos escolhidos no contôrno e outra, para o registo do número de dentes.

Assim, relativamente a cada fôlha preenchem-se quatro fichas, duas das quais referentes à aba direita, ou ao lado mais desenvolvido, e duas ao lado esquerdo, ou ao de menor desenvolvimento.



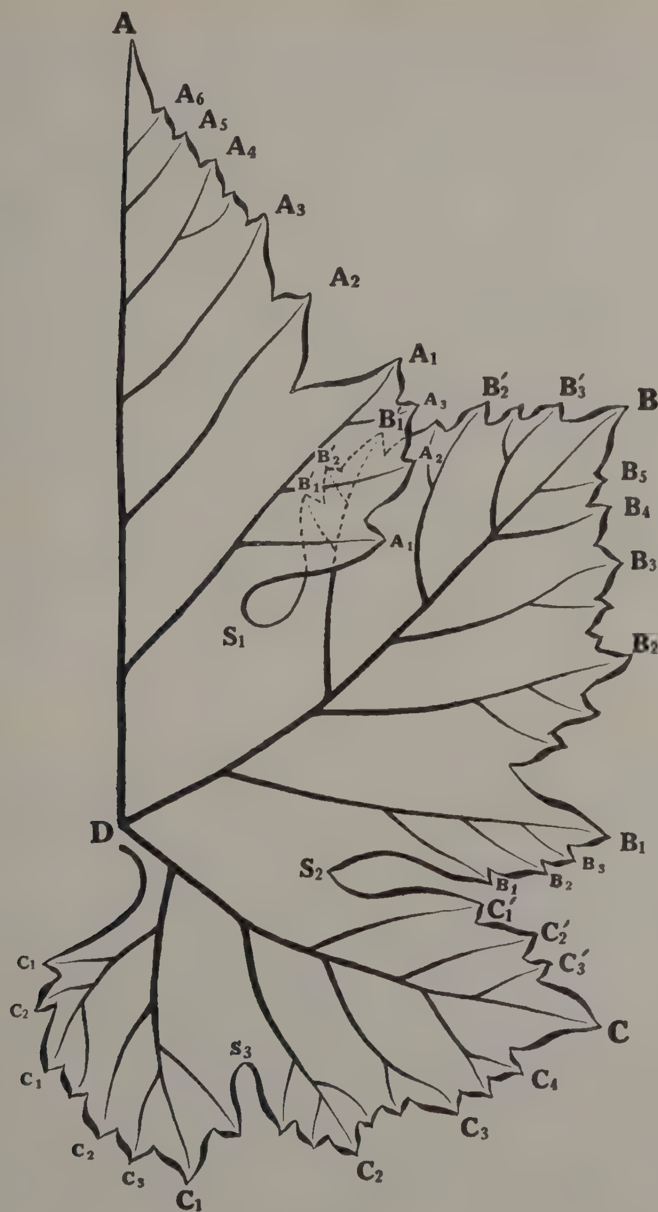

A
A6
A5
A4
A3
A2
A1
A3
A2
A1
B1'
B2'
B3'
B
B'2
B1
B5
B4
B3
B2
B1
B3
B2
B1
S1
S2
S3
D
C1'
C2'
C3'
C
C4
C3
C2
C1
C1
C2
C1
C2
C3

Fig. 3

Nas fichas correspondentes às coordenadas, regista-se o número de ordem da fôlha, o comprimento da nervura principal mediana, e as coordenadas: dos pontos **B** e **C** (Fig. 3), vértices das nervuras principais laterais; dos pontos A_1, B_1 e C_1, vértices das primeiras ramificações secundárias das nervuras principais; do ponto c_1, vértice da primeira ramificação terciária da segunda principal lateral e do ponto c_1, quando o seio peciolar seja definido por uma nervura de 4.ª ordem. Igualmente se registam nessas fichas as coordenadas dos pontos mais reentrantes dos seios laterais S_1 e S_2, nas suas diferentes posições, conforme referimos.

Nas fichas referentes ao número de dentes registam-se todos os dentes das duas abas da fôlha, separando-os por categorias conforme as notações indicadas na fig. 3. Os dentes intermediários de cada uma das categorias estabelecidas são registados, indicando-se as posições que ocupam, em colunas próprias que alternam com as colunas respeitantes às diferentes categorias.

Conjugando os valores registados nas duas fichas — coordenadas e número de dentes — podemos com grande facilidade, e bastante rigor, desenhar os esquemas dos lóbulos e determinar as relações planimétricas das diferentes regiões.

* * *

Para a transformação das observações filométricas, trabalho necessário na consecução do processo, construímos um diagrama circular de cálculo (Anexos I e II), em substituïção do nomograma apresentado em trabalho anterior (RODRIGUES, 1943). Com êste diagrama simplificamos enormemente a transformação das coordenadas para um dado comprimento da nervura principal mediana, porque se fazem tôdas as leituras referentes a uma fôlha, directamente, uma vez colocadas as escalas na devida posição.

O diagrama consta de duas escalas logarítmicas, circulares (Fig. 4), equivalentes a uma régua de cálculo com 40 cm. de comprimento, numeradas de 10 a 200. Para a montagem, recorta-se circularmente a escala reproduzida no Anexo I; cola-se numa placa de madeira a escala reproduzida no Anexo II e com uma *punaise* coloca-se a primeira sôbre a segunda escala, ajustando perfeitamente os cruzamentos dos rectículos gravados nos centros das escalas.

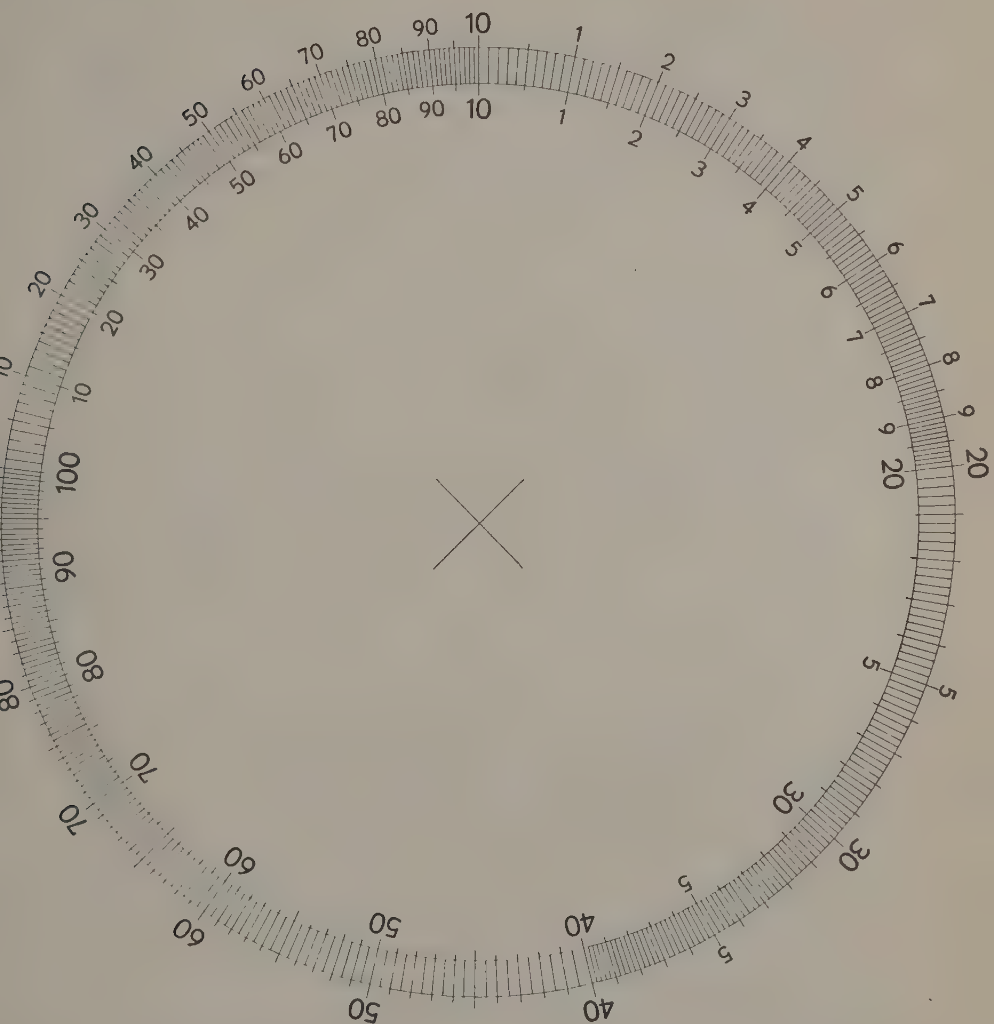


Fig. 4

Faz-se a transformação das coordenadas, correspondentes a uma dada fôlha, procedendo do seguinte modo: entra-se com o valor do comprimento da nervura principal mediana na escala superior, por exemplo, e ajusta-se a divisão correspondente com a divisão 100 da escala inferior. Entrando seguidamente na escala superior com os valores das coordenadas medidas, as divisões em correspondência na outra escala dão imediatamente os valores das transformadas.

SUMMARY

The surface development of the leaves of different plants depends on the type of prefoliation, on the shape and margin, on the organisation of the vein system, on its anatomic constitution and, very particulary, on the consistency of the veins and cutinisation of the epidermis etc.

In the leaves of *Prunus Persica*, for instance, the initial development of the limb follows two planes that intercross in the main vein; after this the main vein makes a curve and the leave gets more or less folded like a gutter. The total planification is impossible, we can only planify separately the two sides of the limb folding them by the main vein.

In leaves of *Vitis vinifera* the initial development follows two planes that intercross in the main vein; the development of the regions, corresponding to the different main veins, becomes independent after this, following or not a special plane.

The total planification of the adult leaves of different varieties of *Vitis vinifera* is, in most cases, impossible. A more or less rigorous planification of the foliar regions corresponding to each of the main veins can nevertheless be obtained independently. The planes corresponding to the contiguous regions intercross reciprocally on the lines uniting the base of the main veins — the common point of all planes — with the more internal points of the lateral sinus or else, when these do not exist, with the vertex of the angles formed by the teeth that limit the different regions.

As a rule the simetric leaves that should be utilised in taxonomic studies, develop following 3 or 5 different planes.

A precise definition of the shape of the leaves in a space of

three dimensions can be obtained using the philometric method developed by the author in previous work.

This paper deals specially with the case of *Vitis vinifera* and shows a practical way to take the necessary measures for a complete and exact representation of the shape and planimetry of the leave.

The registration blanks and notations used in the records of the philometric observations are described.

A circular diagram was also worked out for the transformation of the philometric observations necessary for the total achievement of the process.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

RODRIGUES, A.

1942 O polimofismo foliar e os estudos de filometria. Aplicação prática de um método ampelométrico. *Agron. Lusitana* **4** (4): 339-359.

1943 Filometria e carpometria nas Pomóideas e Prunóideas. Generalização à Pomologia Sistemática de um método de determinação da forma. *Agron. Lusitana* **5** (3): 251-277.

NOTA — Dizemos na pág. 365 que a planificação total das fôlhas das diferentes castas de *V. vinifera* é, na maior parte dos casos, impossível. De facto, e em rigor, o desenvolvimento, natural, das fôlhas, num único plano, pode restringir-se a um pequeno número de castas. Todavia, devemos advertir que, na prática ampelométrica, e sobretudo nas fôlhas com recortes muito profundos, basta, por vezes, um ligeiro emmurchecimento para tornar possível uma aceitável juxtaposição de tôda a fôlha sôbre o reticulado milimétrico, ou a existência de tão pequenas divergências, nas duas posições dos pontos mais reentrantes dos seios laterais, para que estas possam ser desprezadas.

De uma maneira geral, a dificuldade acentua-se conforme deminue a profundidade dos seios laterais — tornando indispensável a consideração das duas posições — e atinge o mais elevado grau nas fôlhas não lobadas ou sublobadas.

Porque, nas diferentes castas, a profundidade dos seios laterais das fôlhas depende do nível em que estas estão inseridas nos sarmentos, assim, relativamente às fôlhas de uma determinada casta, e conforme o nível a que pertençam, pode ou não ser necessário considerar os elementos relativos à definição planimétrica.

SÔBRE A CARACTERIZAÇÃO DA FORMA DAS DRUPAS E DOS SEUS CAROÇOS

POR *ACÚRCIO RODRIGUES*
(Estação Agronómica Nacional)

EM trabalho anterior (RODRIGUES, 1945), definiram-se as condições de comparabilidade dos frutos e dos caroços das drupas; indicou-se a maneira prática de efectuar a determinação da forma e referiram-se os elementos de maior interêsse na sua caracterização.

Relativamente aos caroços de *Prunus Persica*, mostrou-se a importância da sua *escultura característica* (MEADER & BLAKE, 1939) na distinção de algumas variedades, e apresentou-se um modo simples de obter a sua representação gráfica.

Para a obtenção do contôrno aparente horizontal aconselhava-se a execução dos fotogramas dos caroços dispondo-os verticalmente, com o auxílio de plasticina, sôbre uma fôlha de papel fotográfico. Assim se obtiveram as silhuetas representadas na fig. 3 C, correspondentes às variedades *De Alcobaça* e *Frei Bernardo de Brito*, e o fotograma 1 da Estampa IV, referente a um caroço da forma *Galega* de *Olea europaea* L. (RODRIGUES, 1945). Mais còmodamente, e com a vantagem de uma nova representação da sua escultura, pode seguir-se o processo seguinte: cortam-se os caroços, transversalmente, segundo o plano que define o contôrno aparente horizontal e dispõem-se as secções, sôbre um vidro, inclinando-as convenientemente, com plasticina, de modo que o eixo do caroço fique em posição vertical. Na câmara escura, coloca-se o vidro sôbre o papel fotográfico e ilumina-se convenientemente. As silhuetas que se obtêm por êste processo são idênticas às que se obteriam pelo processo referido no trabalho citado. Porém, se imprimirmos, com tinta apropriada, as secções realizadas no caroço, além do rebatimento sôbre o plano horisontal de projecção da linha que define o contôrno aparente horizontal, isto é, a sua verdadeira forma, podemos obter uma representação da própria escultura do caroço, no fendilhamento e na perfuração do endocarpo.

Na fig. 1, apresentamos as secções feitas em caroços das variedades de *Prunus Persica* (L.) Stokes: *De Alcobaça* (correspondente ao fotograma representado na fig. 3-1 C do trabalho citado), *Director Santos*, *J. H. Hale*, *Do Dom Abade* (referente a um dos caroços cuja escultura foi apresentada na fig. 2 do mesmo trabalho) e *Kieng-Si*; as diferenças são tão nítidas que nos dispensam mais considerações.

Na *Olea europaea* L., em que as pequenas dimensões dos caroços e a delicadeza das estrias tornam impraticável a representação gráfica da sua escultura pelo processo descrito no trabalho acima citado, pela impressão dos cortes transversais, além de conseguirmos a definição do contôrno, obtemos uma representação do relêvo da superfície externa, a determinação da espessura do endocarpo e até a posição relativa e a forma da secção transversal da semente.

No nosso já referido trabalho, ao considerarmos, especialmente, a determinação da forma dos caroços das drupas, dissemos (pág. 169 e 170) que não admitiam qualquer elemento de simetria os frutos e os caroços de *Olea europaea* L.. De facto, os ovários das flores da Oliveira são biloculares e tetra-ovulados, mas porque abortam geralmente três dos óvulos, os frutos são, de ordinário, monospérmicos; por isso, se tomarmos o fruto como um todo, não é possível, senão em casos excepcionais, encontrar qualquer elemento de simetria. Mas, porque na caracterização, com fins taxonómicos, da forma dos frutos, ou dos caroços, o que interessa é a superfície que limita êsses orgãos, a asserção expendida não tem valimento.

Na *Olea europaea* L., os frutos perfeitos, ou são simétricos em relação a um eixo, ou como acontece na quási totalidade das formas cultivadas, admitem um plano de simetria.

No primeiro caso, a superfície é de revolução e fica completamente definida pelo eixo e pela geratriz. O contôrno aparente vertical coincidirá com um meridiano da superfície e definirá essa geratriz. Neste caso, é suficiente um único fotograma.

Quando os frutos admitem um plano de simetria, colocando o fruto, verticalmente, com o ápice voltado para nós, o plano de perfil que passa pelo eixo do fruto é o seu plano de simetria.

Neste caso, para a definição completa da forma do fruto são necessários três fotogramas.

Retirando a polpa verificamos que êsse plano de simetria do fruto coincide sensivelmente com um plano de simetria do caroço. Os dois sulcos dos feixes dorsais dos carpelos são, na generalidade, linhas torsas e dispõem-se mais ou menos obliquamente em relação a êsse plano. Com a diferente torsão e obliqüidade dessas linhas, num mesmo caroço, coincide freqüentemente um desvio lateral do ápice e, mais ou menos, diferente traçado nas duas linhas que definem o contôrno aparente vertical, mantendo de perfil o plano



Fig. 1 — Impressões das secções transversais de caroços de diferentes variedades de *Prunus Persica* (L.) Stokes:
1) *De Alcobaça*; 2) *Director Santos*; 3) *J. H. Hale*; 4) *Do Dom Abade*: 5) *Kieng Si*. (Tamanho natural)

de simetria do fruto. A intercepção dêsse plano com a superfície do caroço define neste, regra geral, as duas linhas de maior assimetria.

Evidentemente que a noção de fruto ou de caroço perfeito, simétricos, tem aqui, especialmente, um significado de comparabilidade, por isso que, dada a tendência, bem marcada, para a produção de frutos e de caroços simétricos, só êstes devem ser comparados, visto a assimetria comportar os mais diversos graus e não podermos estabelecer uma escala para essa assimetria.

Na fig. 2, apresentamos os três fotogramas originais [1] e as

---

(1) Fizemos a execução dos fotogramas, com a maior facilidade, colando os caroços convenientemente orientados numa placa de vidro e dispondo esta sôbre uma fôlha de papel fotográfico. Para se obter o registo dos pontos de entrada do feixe vascular da semente, espetaram-se os caroços com um curto estilete; as marcas deixadas no papel fotográfico serviram para a composição das setas.

ampliações dos dois primeiros e da impressão da secção transversal de um caroço da forma *Galega* de *Olea europaea* L.. Obteve-se o primeiro fotograma colocando o caroço com o eixo disposto horizontalmente e com o plano de simetria paralelo ao plano do papel fotográfico. Neste fotograma, as duas linhas do contôrno, de um e do outro lado do eixo, definem a maior assimetria do caroço. Fez-se o segundo fotograma, dispondo o caroço também com o eixo na posição horizontal mas com o plano de simetria de perfil. Neste fotograma, as duas linhas que definem o contôrno aparente são perfeitamente simétricas relativamente ao traço dêsse plano. As setas indicam, nos dois primeiros fotogramas, o ponto R, de entrada do feixe vascular da semente, e no terceiro, os perfis dos feixes dorsais carpelares. Neste caroço, as linhas médias dos dois sulcos correspondentes aos feixes dorsais existem no mesmo plano.

Na Estampa IV do nosso já citado trabalho, apresentámos três fotogramas e três fotografias do mesmo caroço, e concluimos na página 178, que o caroço tinha uma forma bastante assimétrica, porque orientámos as projecções colocando de perfil o plano que contém as linhas médias dos sulcos dos feixes dorsais; quando afinal, abstraindo da disposição dêsses sulcos, o caroço era pràticamente simétrico em relação ao plano que passa pelo eixo do caroço e que na fig. 2 colocamos de perfil.

Devemos ainda acrescentar que a existência tão aparente, nesse caroço, dos sulcos dos feixes dorsais, foi por nós provocada ao retirarmos completamente êsses feixes enquanto mantivemos os outros feixes e as suas ramificações, como pode ser observado nas três fotografias publicadas no referido trabalho.

Quando o caroço é bastante rugoso, os sulcos dos feixes dorsais e dos restantes feixes de ennervação dos carpelos confundem-se aparentemente, distinguindo-se os primeiros, em observação mais atenta por serem contínuos e por terminarem no ápice do caroço.

Ainda como exemplo, apresentamos na fig. 3 os fotogramas, as ampliações dêstes e da impressão do corte transversal do endocarpo, referentes a um caroço, de perfeita simetria relativamente a um plano, da forma cultural *Maçanilha* de *Olea europaea* L.. Nesta figura, as setas indicam, como no primeiro caso, os pontos de

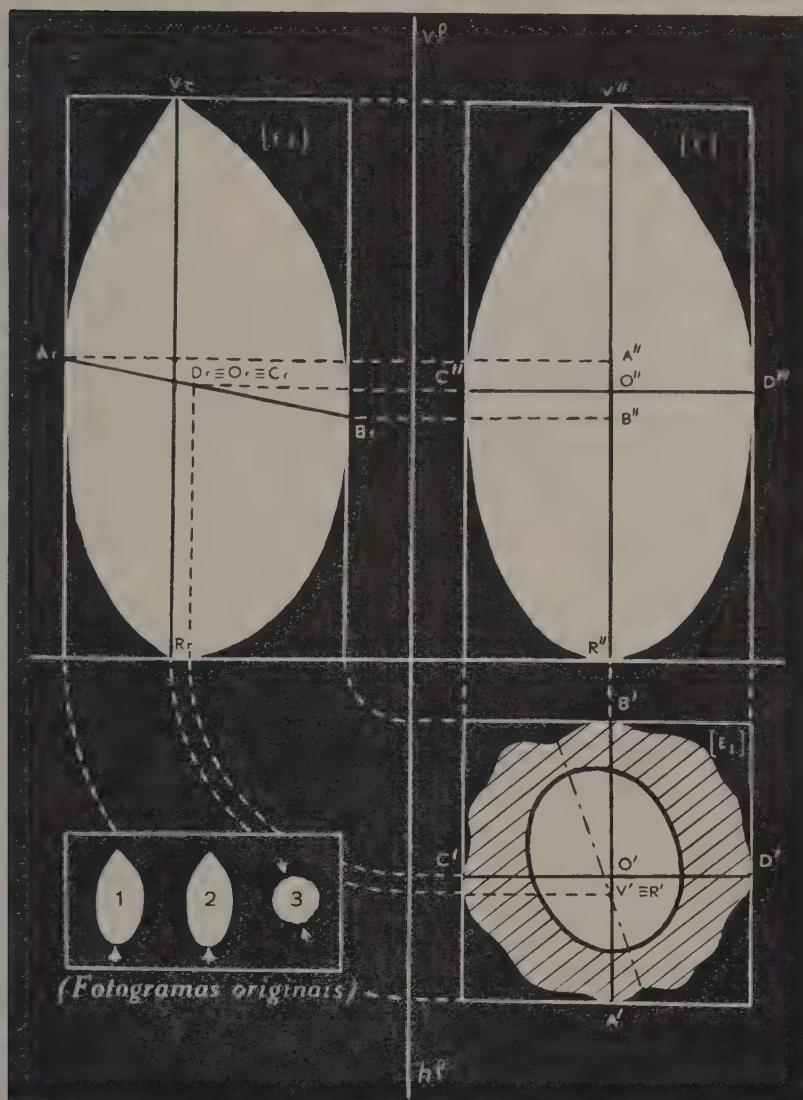


Fig. 2 — Projecções e fotogramas originais do caroço de um fruto da *forma* cultural *Galega*, de *Olea europaea* L. β *sativa* (Hoffgg. et LK.) DC. (Aprox.te 6 ×).

entrada do feixe vascular da semente e os perfis dos sulcos dos feixes dorsais dos carpelos.

Para tornarmos possível por sobreposição a comparação dos correspondentes contornos aparentes, colocámos nas fig. 2 e 3, o eixo do caroço a iguais distâncias do plano γ_0 e do plano auxiliar ρ, pela mesma razão, considerámos o ponto R, de entrada do feixe vascular da semente, como pertencendo ao plano horizontal de projecção, e ampliámos para um mesmo comprimento os eixos dos dois caroços.

Nestes, as linhas que unem os pontos A e B, e C e D da superfície e cujas tangentes na projecção horizontal são respectivamente paralelas e perpendiculares ao γ_0, interceptam-se no ponto O, e portanto pertencem a um plano π, paralelo à LT.

As duas formas culturais têm v^{π} na parte superior do plano vertical de projecção, mas enquanto que na forma *Maçanilha* h^{π} está na parte anterior do γ_0, na forma *Galega*, está na parte posterior do mesmo plano de projecção. Na primeira, o ângulo de $\pi\gamma_0$ é, aproximadamente de 7°, na *Galega*, é de 180° — 11°.

No exemplo referente à forma *Galega*, as linhas médias dos sulcos correspondentes aos feixes dorsais pertencem, como dissemos, a um mesmo plano, projectante horizontal, cujo traço (h^{ε}) está representado na figura pela linha a traço e ponto que define a orientação da semente. A intercepção dêste plano com o plano de simetria do caroço coincide com o eixo do caroço e da semente. Os dois planos fazem entre si um ângulo de 20° aproximadamente.

No exemplo apresentado na fig. 3, referente à forma *Maçanilha*, as linhas médias dos sulcos dos feixes dorsais pertencem a dois planos projectantes horizontais cuja intercepção coincide com o eixo do caroço e da semente e fazem entre si um ângulo de 130°. A orientação da semente pode ser, neste caso, sensivelmente definida por uma linha perpendicular à bissectriz dêsse ângulo.

Em qualquer dos casos, as menores espessuras do endocarpo coincidem sempre com as intercepções dos planos dos sulcos dos feixes dorsais, e as maiores espessuras, manifestam-se, de um e outro lado, perpendicularmente à linha que define a orientação da semente.

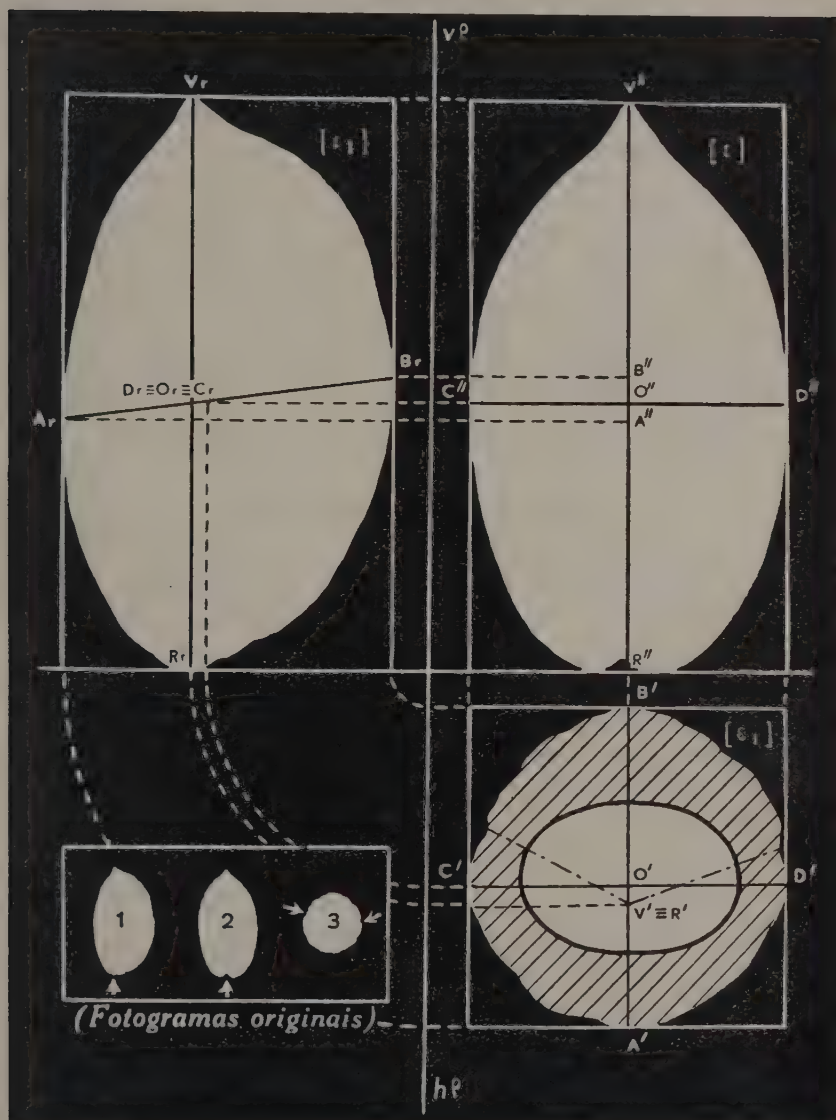


Fig. 3 — Projecções e fotogramas originais do caroço de um fruto da *forma* cultural *Maçanilha*, de *Olea europaea* L. β *sativa* (Hoffgg. et LK.) DC. (Aprox.te 5 ×)

SUMMARY

This work points out a practical method to obtain an exact definition of the apparent horizontal outline of the stones of the drupes, indispensable for a complete characterization of its shape. This method has also the advantage of giving us, together with the above said definition, a representation of the external surface, the determination of the thickness of the endocarp and even the relative position and the shape of the transversal section of the seed.

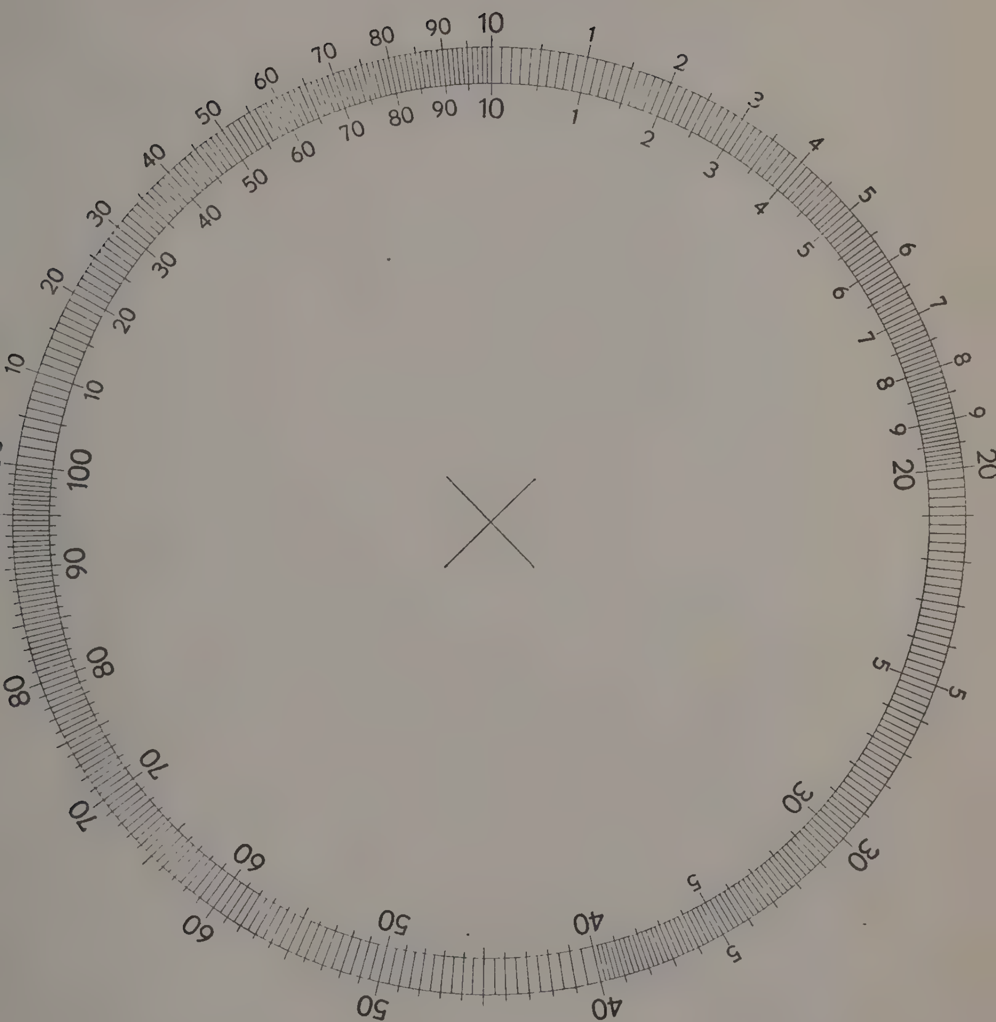
Having taxonomic findings in mind, the conditions of comparability of the fruits and stones of *Olea europaea* L. were defined; a practical way is also pointed out to determine their shape and the norms of its representation. The most important elements in their characterization are also refered to.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MEADER, E. M. and M. A. BLAKE
1939 Some plant characteristics of the second generation of *Prunus Persica* and *Prunus Kansuensis* crosses. *Proc. Am. Soc. Hort. Sc.* **37**: 223-231.

RODRIGUES, A.
1945 Os estudos de filometria e de carpometria na caracterização das plantas de interêsse florestal ou frutífero. Determinação da forma dos frutos das *Coriláceas* e das *Castanáceas* e dos caroços das drupas (Gén. *Prunus, Juglans* e *Olea*). *Agron. Lusitana* **7** (2): 159-189.


10
1
2
3
4
5
6
7
8
9
20
5
30
5
40
50
60
70
80
90
100
10
20
30
40
50
60
70
80
90



INDICE DO VOLUME VII

SUMÁRIO